

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR

MEDISCHE MICROBIOLOGIE



Thema One Health

SARS-CoV-2 bij nertsen
Microbioom in de veehouderij
Emerging arboviral disease
Zoönotische transmissie antibioticumresistentie
Tekenbeetziekten

Casus

Encefalitis door HHV-7?



nederlandse vereniging voor medische microbiologie

Nederlands Tijdschrift voor
Medische Microbiologie
Het officiële orgaan van de
Nederlandse Vereniging voor Medische
Microbiologie (NVMM) informeert lezers
over zowel fundamentele als klinische
relevante ontwikkelingen binnen het
vakgebied. Ook biedt het plaats voor
promoties, symposium- en congres-
verslagen en cursusaankondigingen.

NVMM-secretariaat
Postbus 21020, 8900 JA Leeuwarden
Tel. (058) 293 94 95
Fax (058) 293 92 00
E-mail: secretariaat@nvmm.nl
Internet: www.nvmm.nl

Hoofredactie
Dr. Bert Mulder

Redactie
Dr. Jarne M. van Hattem, Nicolien M.
Hanemaaijer, dr. Esther Heikens,
dr. Jaap J. van Hellemond, Maarten
Heuvelmans, Jan A. Kaan, dr. Bob
Meek, dr. Janette C. Rahamat-
Langendoen, Gro L. Vlaspolter

Redactiesecretariaat
Alphatekst, Marina Kapteyn
Baronie 42
2405 XG Alphen aan den Rijn
tel. 06 12076835
marina@alphatekst.nl

Frequentie 4 x per jaar. Alle rechten voorbehouden.
Op deze uitgave is het redactiereglement van
toepassing.

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd,
opgeslagen in een geautomatiseerd gegevens-
bestand of openbaar gemaakt, in enige vorm of op
enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door
fotokopieën, opnamen, of enige andere manier,
zonder voorafgaande schriftelijke toestemming
van de redactie. De redactie verklaart dat deze
uitgave op zorgvuldige wijze en naar beste weten is
samengesteld; evenwel kan de redactie op geen
enkele wijze instaan voor de juistheid of volledigheid
van de informatie. De redactie aanvaardt dan
ook geen enkele aansprakelijkheid voor schade,
van welke aard ook, die het gevolg is van bedoelde
informatie. Gebruikers van deze uitgave wordt
met nadruk aangeraden deze informatie niet
geïsoleerd te gebruiken, maar af te gaan op hun
professionele kennis en ervaring en de te gebruiken
informatie te controleren.

Inhoud

Pagina

Van de gastredactie	99
<i>Maarten Hoek, Jovanka Bestebroer</i>	
Transmissieroute	
Toewijding	100
<i>Fleur Koene</i>	
Thema One Health	
Een One Health-benadering voor infectieziekten	101
<i>Maarten Hoek, Jovanka Bestebroer, Dick Heederik</i>	
SARS-CoV-2 on mink farms in the Netherlands; a One Health investigation	105
<i>Francisca Velkers, Robert Jan Molenaar, Maurice La Haye, Marcel Spierenburg, Lidwien Smit, Reina Sikkema</i>	
Het microbioom in de zoönotische transmissie van antibioticumresistentie	112
<i>Anita Schürch, Lapo Mughini-Gras, Birgitta Duim, Rob Willems</i>	
Het microbioom in een veerkrachtige veehouderij	118
<i>Johanna Rebel, DirkJan Schokker, Ingrid van Dixhoorn, Alex Bossers, Bas Kemp</i>	
Emerging arboviral diseases	122
<i>Pauline de Best, Mariken de Wit, Kiki Streng, Martha Dellar, Marion Koopmans</i>	
Tekenbeetziekten	128
<i>Ingrid Dijkgraaff</i>	
Casuïstiek	
Encefalitis op basis van humaan herpesvirus 7 bij een immuun-competente patiënt?	135
<i>Sjacky Cooijmans, Tom Olde Dubbelink, Bert Mulder</i>	
In Memoriam	
Anna Maria Dingemans-Dumas (1942-2021)	141
<i>Gerard van Doornum</i>	
Promoties & oraties	143

Van de gastredactie

De tweede zomer met COVID is inmiddels achter de rug. Een aantal mensen heeft het erop gewaagd en is de grens overgestoken, op zoek naar vakantie 'zoals vanouds'. Op het moment van schrijven is het kabinet van plan vrijwel alle coronamaatregelen per 20 september los te laten. In dit themanummer wordt ingegaan op hoe de huidige pandemie en de klimaatcrisis de beoefening van de geneeskunde beïnvloeden, en op hoe deze zoals 'vanouds' weer vanuit een One Health-perspectief benaderd wordt. En met 'vanouds' wordt verwezen naar de 19e eeuw. Toen de geneeskunst van dier en van mens nog onlosmakelijk met elkaar verbonden waren.

In Nederland genieten wij van eerste klas medische kennis en service. Vergaande medische specialisaties met diepgaande kennis staan ons tot beschikking. Intensive-carebehandelingen zijn onze laatste hoop in onze individuele strijd tegen het SARS-CoV-2-virus en de overlevingskans voor iemand die op de intensive care terecht komt met COVID is ruim verdubbeld sinds het begin van de pandemie. Lof aan alle medisch specialisten en het verplegend personeel, die dit mogelijk hebben gemaakt en nog altijd voor ons klaarstaan.

Het grote succesverhaal zit echter ook in een ander aspect van de medische kennis: One Health. One Health is een collaboratieve, multisectoriële en transdisciplinaire benadering - werkend op lokaal, regionaal, nationaal en mondiaal niveau - met als doel het bereiken van optimale gezondheidsresultaten door het erkennen van de onderlinge verbondenheid tussen mensen, dieren, planten en hun gedeelde omgeving.

In deze One Health thema-uitgave van het *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie (NTMM)* vertellen wij u meer over hoe het One Health-concept in Nederland al in een vroeg stadium omarmd is en hoe dit heeft bijgedragen aan snelle samenwerking en kennisdeling binnen het Netherlands Centre for One Health (NCOH), onder andere tijdens deze pandemie.

Met een aantal concrete voorbeelden vanuit de NCOH-onderzoeksthema's zal het One Health-concept verduidelijkt worden. Allereerst is er een artikel over de verspreiding van en mutaties van SARS-CoV-2 bij nertsen. Daarna volgen er verkennende artikelen over het belang van een rijk microbioom in de zoönotische transmissie van antibioticumresistentie en de veerkracht van het immuunsysteem. Hoe de klimaatcrisis het risico op arbovirussen vergroot en hoe deze problematiek door een groot onderzoeksconsortium in kaart gebracht wordt. Afsluitend leest u een artikel over hoe de klimaatcrisis en de verarming van de biodiversiteit een verhoogd risico op tekenbeetziekten bij de mens veroorzaken.

De geschiedenis van de geneeskunde heeft zijn oorsprong in een One Health-benadering. Externe factoren, zoals overtuigingen en financiële motivatie, hebben geleid tot het ontstaan van afzonderlijke silo's. De huidige pandemie en klimaatcrisis leggen het belang en de meerwaarde van een nauwe samenwerking tussen de medici (onder wie ook artsen-microbioloog, dierenartsen, ecologen, biologen, et cetera) des te meer bloot en daarmee het belang van NCOH voor eenieder in Nederland

*Maarten Hoek en Jovanka Bestebroer,
gastredacteuren*

M.R. Hoek, NCOH-communicatiemanager en dierenarts, Viroscience, Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam.
Dr. J. Bestebroer, NCOH-bestuurssecretaris, afdeling Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht.
Contactpersoon: M.R. Hoek (m.r.hoek@erasmusmc.nl)

Toewijding

Fleur Koene

Toen dr. Hira de pen aan mij overhandigde, barstte ik van de ideeën voor deze *Transmissieroute*. Een kritische noot, mooie casuïstiek, een interessante (persoonlijke) anekdote, een wetenschappelijke insteek; in de afgelopen jaren kwamen ze hier alle voorbij.

Ik kon zelf moeilijk kiezen tussen alle pandemie-geassocieerde anekdotes en visies, mijn soms iets buitengewoonlijke privésituatie of mijn persoonlijke professionele favoriet: antimicrobial stewardship en infectiepreventie in de verpleeg-, verzorgingshuizen- en thuiszorg (VVT)-sector.

Als zuiderling van mijn generatie kreeg ik met de papelepel ingegoten: 'schoenmaker, blij bij je leest'. En hoewel ik daar van kinds af aan tegen rebelleer, ga ik deze volkswijsheid in deze *Transmissieroute* opvolgen. In de VVT-sector is er nog veel winst te behalen wat betreft infectiepreventie en antimicrobial stewardship. De lokale kennis en kunde over deze onderwerpen is vaak niet up-to-date en het belang van infectiepreventie wordt niet in alle linies van de organisaties (h)erkend.

De pandemie bracht infectiepreventie in de VVT-sector, en dan met name in de verpleeghuizen, landelijk onder de aandacht: dit gaat niet goed. Maar het gaat al jaren niet goed.

Nu wil ik meteen benadrukken dat de mate en kwaliteit van infectiepreventie in de verpleeghuizen natuurlijk niet de (enige) redenen zijn dat deze pandemie hier als een bom heeft ingeslagen. De toentertijd gebrekkige kennis over het virus en transmissie, de langdurige tekorten in adequate persoonlijke beschermingsmiddelen (PBM) en het landelijk test- en isolatiebeleid in deze sector in den beginne hebben hier een belangrijke rol in gespeeld. Bovendien ging het bij voorbaat al om een zeer kwetsbare populatie. Daar kon de meest adequate basishygiëne niet tegenop.

Ondanks het verdwijnen van de PBM-tekorten, ondanks de wijzigingen in test- en isolatiebeleid, ondanks de toename in kennis, ondanks vaccinatie, blijven uitbraken in de huidige fase van de pandemie ook in de VVT-sector een bijna wekelijks probleem.

Draagvlak. Daar zit volgens mij de crux van het probleem. De werkdruk ligt al jaren (te) hoog waarbij er weinig continuïteit bij zorgmedewerkers geborgd kan worden. Zogeheten aandachtsvelders infectiepreventie of kwaliteitsverpleegkundigen zijn niet standaard beschikbaar in de VVT-sector. De hoofdverpleegkundigen zijn verdwenen en afdelingen en hun teams worden steeds vaker aangestuurd door teamleiders of locatiemanagers met een uitgebreide managementachtergrond. Maar voor vragen over zorgbeleid bij infectiepreventie of voor die continue controle op naleving van goede basishygiëne, kan het team er vaak niet terecht. De nieuwe varianten van woonvormen in deze sector dragen ook niet bij aan meer duidelijkheid over de te nemen maatregelen en beleid bij de bevinding van bijvoorbeeld een BRMO. In een sterk vergrijzend Nederland, waar diverse woon/zorgvormen met kwetsbare bewoners als paddenstoelen uit de grond poppen, waar de opbouw en soms zelfs het gedachtengoed of het fysieke gebouw van een VVT-organisatie zich vaak niet lenen voor goed georganiseerde infectiepreventie, zou het toch zinvol zijn als de arts-microbioloog de rol van medisch specialist ook in die setting proactief oppakt. Samen met de GGD en de academie topzorg bieden, ook in deze sector. Zo kunnen we als toegewijd VVT-infectiepreventieteam in elke (nood)situatie snel schakelen binnen de regio en tussen regio's, en is het wellicht haalbaar meer draagvlak voor infectiepreventie en zichtbaarheid van de arts-microbioloog te creëren in zowel de hogere echelons als op de werkvloer.

Ik geef de pen door aan Annette Stermerding.

F.M.H.P.A. (Fleur) Koene, arts-microbioloog
Streeklaboratorium GGD Amsterdam - Amsterdam,
e-mail: fkoene@ggd.amsterdam.nl

Een One Health-benadering voor infectieziekten

Maarten Hoek, Jovanka Bestebroer, Dick Heederik

One Health-benadering

'One Health' staat voor de interdisciplinaire samenwerking op het gebied van de gezondheid van mens, dier en het milieu. Door samenhangend en onderling verbonden onderzoek uit te voeren binnen deze domeinen ontstaat een geïntegreerd en evenwichtig perspectief van waaruit duurzame investerings- en interventiestrategieën kunnen worden ontwikkeld en uitgevoerd.

Het besef dat de gezondheid van de mens sterk verbonden is met de gezondheid van dieren en omgeving is reeds lang erkend. Gedocumenteerde inzichten stammen reeds uit de Griekse oudheid. Een voorbeeld hiervan is dat de Grieken de link hadden gelegd tussen slechte lucht (moeraslucht), miasma en de ziekte die we nu nog steeds kennen als malaria. Meer recentelijk, in 1796, merkte dokter Edward Jenner op dat melkmeisjes die eerder koepokken hadden opgelopen, beschermd waren tegen het humane pokkenvirus. 'One Health' is dus geen nieuw concept.

Door de scheiding van de uitoefening van geneskunde van mens en dier met vergaande specialisaties, is de One Health-benadering echter grotendeels onderbelicht geraakt. Door de huidige pandemie, de klimaatcrisis en het verlies aan biodiversiteit heeft het One Health-concept weer nieuwe erkenning gekregen. Met de oprichting van het Netherlands Centre for One Health (NCOH) in 2017 loopt Nederland internationaal voorop op het terrein van One Health (www.ncoh.nl).

Netherlands Centre for One Health (NCOH)

9 partners in Nederlandse universiteiten en umcs + 1 associate partner (RIVM)

- > 400 actieve deelnemers
- > € 50 miljoen investering
- > 30 samenwerkingsprojecten
- > 100 hoofdonderzoekers
- > 65 PhD-studenten

Voor een land als Nederland is een One Health-benadering bij uitstek essentieel. Nederland is een handelsnatie met intensieve internationale verbindingen en is dichtbevolkt (Nederland wordt door veel buitenlanders gezien als één grote stadstaat met wat groene plukjes). Daarnaast is het een voorloper op het gebied van intensieve veeteelt en intensieve akkerbouw, en de nog bestaande versnipperde natuurgebieden kennen een teruglopende biodiversiteit, die verder onder druk gezet wordt door hoge populatiedichtheid, intensieve land- en akkerbouwen en de klimaatcrisis. Ruim zeventien miljoen mensen wonen samen met 120 miljoen dieren op een klein oppervlak (figuur 1, zie pagina 102). Daarnaast wordt Nederland jaarlijks door veel trekvogels bezocht, waardoor nieuwe virussen en micro-organismen kunnen worden geïntroduceerd. Door deze verschillende aspecten is er een hoog potentieel risico op uitwisseling van virussen en micro-organismen.

De directe en intensieve interacties tussen mens, dieren en leefomgeving kunnen een voedingsbodem zijn voor (nieuwe) gezondheidsrisico's bij mens en dier, en voor schade aan de leefomgeving. Daarmee is Nederland een voorbeeld van een ecosysteem dat onder druk staat. Het NCOH heeft als doel om gericht onderzoek op te zetten naar gezondheid van mensen en dieren in deze complexe omgeving (figuur 2, zie pagina 102).

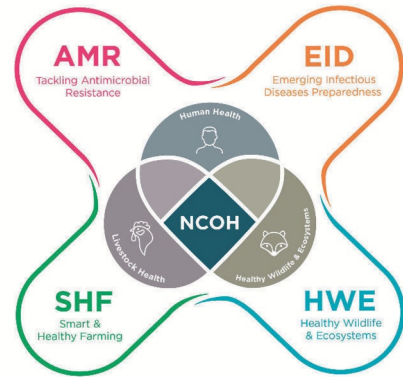
M.R. Hoek, NCOH-communicatiemanager en dierenarts, Viroscience, Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam.
Dr. J. Bestebroer, NCOH-bestuurssecretaris, afdeling Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht.
Prof. dr. ir. D.J.J. Heederik, NCOH-voorzitter en hoogleraar One Health Risk Analysis, Institute for Risk Assessment Sciences, Universiteit Utrecht, Utrecht.
Contactpersoon: M.R. Hoek (m.r.hoek@erasmusmc.nl).

Netherlands Centre for One Health (NCOH)

Het NCOH verenigt toonaangevende academische onderzoeksinstituten in Nederland in een open onderzoeksnetwerk, met een focus op One Health. Door een geïntegreerde aanpak kan beter op de wereldwijde risico's van infectieziekten en het groeiende probleem van antibioticumresistentie worden geanticipeerd, kunnen slimme landbouw- en dierhouderijsystemen ontwikkeld worden door gebruik te maken van de laatste technologieën voor het constante vervolgen van de gezondheidsstatus van boerderijdieren en gewassen, en kunnen duurzame en robuuste buitengebieden gecreëerd worden, om de vestiging en verspreiding van ziekteverwekkers tegen te gaan. Hiermee stimuleert het NCOH samenwerking tussen academische en onderzoeksinstituten, NGO's en overheidsinstellingen.

NCOH-partners zijn: Amsterdam UMC, Erasmus MC, KNAW, LUMC, Radboudumc, UMC Utrecht, Universiteit Leiden, Universiteit Utrecht en Wageningen UR. Al deze instituten hebben geïnvesteerd in de eerste fase van het NCOH door het financieren van promovendi op onderzoek in samenwerking met andere partners binnen het NCOH. Op basis van deze inleg heeft het NCOH onderzoeksaanvragen opgesteld voor de onderstaande thematische programma's. Het RIVM neemt deel in enkele onderzoeksthema's met eigen middelen.

Het NCOH richt zich op vier belangrijke uitdagingen op het gebied van infectieziekten die een One Health-benadering vereisen (zie figuur 2 en Box 1):



Figuur 2. De vier strategische onderzoeksthema's van het NCOH

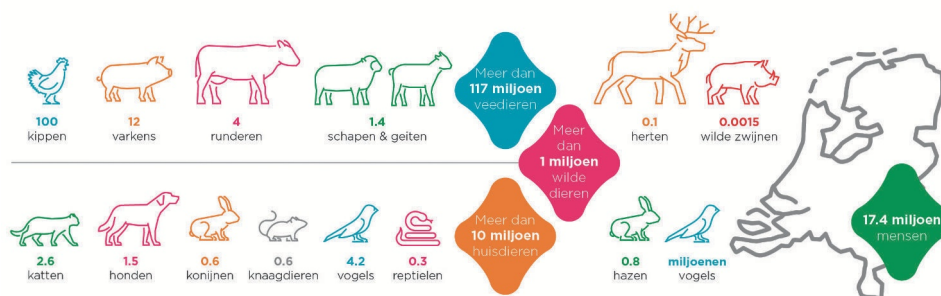
antimicrobiële resistentie (AMR), geavanceerde en gezonde veehouderij (SHF), gezonde ecosystemen en wilde dieren (HWE), opkomende infectieziekten (EID).

Het NCOH heeft drie kernactiviteiten:

- 1) Onderzoek, georganiseerd in drie programma's:
 - Complex systems & Metagenomics
 - Ziekte-interventiestrategieën
 - Vectoroverdraagbare ziekten.
- 2) Kennisuitwisseling; het NCOH fungeert als een One Health-platform voor uitwisseling van ideeën en discussie over onderzoek.
- 3) Zichtbaarheid; het NCOH draagt nationaal en internationaal de One Health-boodschap uit.

Dieren in Nederland

(in miljoenen)



Figuur 1. Het aantal geschatte dieren in Nederland

Box 1. Missies van de vier strategische onderzoekthema's van het NCOH

Tackling Antimicrobial Resistance: NCOH-AMR

NCOH-AMR heeft tot doel de ziektelast en sterfte als gevolg van antibioticumresistente bacteriële infecties bij mensen te verminderen.

Smart and Healthy Farming: NCOH-SHF

NCOH-SHF heeft tot doel de diergezondheid te verbeteren en de risico's voor de menselijke gezondheid als gevolg van veehouderij en voedselproductie te verminderen.

Emerging Infectious Diseases Preparedness: NCOH-EID

NCOH-EID heeft tot doel de veterinaire en volksgezondheidsparaatheid voor opkomende infectieziekten te verbeteren, door het ontwikkelen van verbeterde voorspellings-, detectie-, preventie- en controlestrategieën.

Healthy Wildlife & Ecosystems: NCOH-HWE

NCOH-HWE heeft het optimaliseren van de gezondheid en robuustheid van ecosystemen tot doel.

Young NCOH

One Health wil zich bij uitstek richten op de toekomst. Inmiddels zijn er veel projecten tot stand gekomen door samenwerking van partners binnen het NCOH. Projecten waar veelal een onderzoeker in opleiding (OIO) aan werkt. Young NCOH is het netwerk voor promovendi en postdocs van de NCOH-onderzoeksgroepen. Doel van het netwerk is het delen van kennis en expertise in One Health-gerelateerde disciplines, hetgeen kan leiden tot nieuwe samenwerkingen in onderzoek. Hiermee ontstaat een netwerk van professionals die elkaar kennen, dezelfde 'taal' spreken (professioneel) en gemakkelijk toegang hebben tot elkaars expertise. De grondslag voor (internationale) samenwerking is hiermee gelegd.

COVID-19-actualiteit en One Health

Epidemieën zijn van alle tijden. Vrijwel alle infectieziekten zijn op enig moment overgesprongen van dier op mens, net als het huidige SARS-CoV-2-virus, de veroorzaker van de COVID-19-pandemie. Nieuw in de huidige wereld is zowel de frequentere introductie van pathogenen die van dier naar mens overspringen, als de snelheid waarmee een lokale uitbraak of introductie kan uitgroeien tot een epidemie en zelfs een pandemie. Een belangrijke oorzaak is 97 procent van 's werelds ecosystemen door menselijk handelen zijn aangetast of verwoest. De nog bestaande ecosystemen hebben inmiddels een kritisch 'omslagpunt' overschreden of zijn dat dicht

genaderd. Vergelijkbaar met het klimaat, leven mens, dier en milieu in een delicaat en complex evenwicht. Door miljoenen jaren evolutie in een relatief rustige geologische periode heeft zich een rijke biodiversiteit kunnen vormen, waarbij dieren, planten, schimmels, bacteriën en virussen samen een robuust ecosysteem vormden. Een hoge mate van biodiversiteit vormt een natuurlijke barrière tegen overheersing van een of enkele soorten. Dit voorkomt hoge infectiedruk en vermindert de kans op het overspringen van infecties tussen verschillende species. Door de snelle ontwikkelingen in de afgelopen decennia is de rijkdom van deze biodiversiteit dusdanig aangetast dat hele ecosystemen verdwenen of ernstig aangetast zijn. Daarmee is het mondiale immuunsysteem verstoord geraakt, wat resulteerde in de opkomst van opportunistische flora en fauna. In deze situaties heeft de toestand van het ecosysteem een pathogeenspecifiek 'omslagpunt' bereikt, waardoor het systeem kwetsbaar wordt voor uitbraken en overheersing door specifieke species. Op dit moment worden deze uitbraken - wanneer ze zich voordoen - reactief, individueel en binnen de individuele vakgebieden (bijvoorbeeld mens versus dier versus ecologische gezondheid, academisch onderzoek versus volksgezondheidsonderzoek, publieke versus private sector) bestudeerd en bestreden. Deze ad hoc, reactieve en gefragmenteerde aanpak is inefficiënt. In plaats daarvan is een proactieve, geïntegreerde, multisectoriële One Health-benadering en voorbereiding op uitbraken nodig.

Er zijn veel voorbeelden waarbij het opwarmen van het klimaat en de reductie in biodiversiteit gezondheids/risico's voor de mens vormen. Vectorziektes uit warmere landstreken, zoals malaria en knokkelkoorts, verspreiden zich steeds noordelijker naar regio's met voorheen een gematigd klimaat. Tijgermuggen, die meeliften met internationale handelsstromen, kunnen zich hier nu door hogere watertemperaturen gemakkelijker vestigen dan 30 jaar geleden. Grotere, actievere teken met ernstige zoönosen uit warme oorden liften mee met trekvogels naar ons land en kunnen de milde Nederlandse winters overleven. Trekvogels hebben hun migratiepatronen aangepast waardoor ze vectoren eerder in het seizoen in Nederland kunnen introduceren. Onderzoekers, epidemiologen en modellers berekenen óf en wanneer nieuwe introducties tot vestiging zullen leiden, óf en wanneer het risico op een ziekte-uitbraak toegenomen is, en wanneer deze gaat pieken of afvlakken. Hiervoor is kennisdeling en nauwe samenwerking nodig. Virologen onderzoeken hoe een virus wordt overgedragen en hoe lang de incubatietijd is. Entomologen richten zich op de levenscyclus van de mug. Huisartsen dragen bij aan detectie en behandeling van mensen. Communicatie-experts informeren de bevolking en professionals. De oplossing komt dus van meer disciplines: One Health.

Onderzoek

Helaas lopen we vaak nog achter de feiten aan. Bij een virale infectie zijn we bijvoorbeeld aangewezen op het kweken van het virus en dat kost veel tijd. Door gebruik te maken van sequenzen, kunnen we nu in een vroeg stadium vaststellen wanneer er veranderingen optreden van het viroom. Hierdoor wordt het mogelijk in een vroeg stadium nieuwe vaccins te ontwikkelen. Deze aanpak staat nog in de kinderschoenen, maar houdt een belangrijke belofte in voor de toekomst. Daar wil het NCOH zijn pijlen op richten.

Vanuit de overheid is het RIVM aangewezen om de kennis van infectieziekten te coördineren en te communiceren en om in tijden van een uitbraak de regie te voeren. Het RIVM maakt daarvoor gebruik van de kennis het netwerk van Universiteiten en academische ziekenhuizen die verbonden zijn aan het NCOH. Het NCOH bundelt toponderzoek wereldwijd op het gebied van One Health. Onder de NCOH-paraplu zijn inmiddels meer dan 60 jonge

onderzoekers (PhD-studenten) bezig met hun promotieonderzoek binnen de drie gedefinieerde programma's: Complex systems & Metagenomics, Ziekte-interventiestrategieën en Vectoroverdraagbare ziekten. Alleen zo kunnen we duurzame oplossingen creëren voor de enorme uitdagingen waarvoor wij als mensheid staan.

Uitdagingen

Vijf jaar NCOH heeft de Nederlandse samenleving veel opgeleverd. Zonder het bestaande netwerk van het NCOH zou het niet mogelijk geweest zijn om zo snel gecoördineerd en efficiënt op de huidige SARS-CoV-2-uitbraak te reageren, onderzoeken op te zetten en data te delen. Bijvoorbeeld tijdens de uitbraken van SARS-CoV-2 bij nertsen kon snel geschakeld worden door samenwerking van medische, veterinaire en omgevingsonderzoekers. Ondanks dit enorme succes blijven er ook nog een hoop obstakels te overwinnen.

Internationale samenwerking

Een echte One Health-aanpak vereist grensoverschrijdende samenwerking. Onze omgeving, ecosystemen, het klimaat en onze eigen gezondheid worden allemaal beïnvloed door wereldwijde gebeurtenissen en ontwikkelingen. Er moeten verdere inspanningen worden geleverd om de activiteiten van One Health op wereldschaal te verenigen.

Financiële toezegging

De huidige financieringsstructuren beperken de reikwijdte en impact van samenwerking en onderzoek op het gebied van One Health. Er zijn langetermijn/investeringen en inzet nodig om onze gezondheid en de gezondheid van de ecosystemen die ons beschermen, veilig te stellen.

Delen van data

Concurrentie kan het beste in ons naar boven halen. Het is echter ook een belangrijke beperkende factor bij het opbouwen van vertrouwde langdurige partnerschappen. Om ons begrip van de factoren die van invloed zijn op de wereldwijde gezondheids-resultaten te vergroten, moeten onderzoekers zich gesteund en aangemoedigd voelen om vrijelijk gegevens en onderzoeksresultaten te kunnen delen en er toegang toe krijgen.

SARS-CoV-2 on mink farms in the Netherlands; a One Health investigation

Francisca Velkers, Robert Jan Molenaar, Maurice La Haye,
Marcel Spierenburg, Lidwien Smit, Reina Sikkema

Summary

In 2020, 69 mink farms in the Netherlands were found to be infected with SARS-CoV-2 and subsequently culled. A One Health research consortium performed an extensive outbreak investigation, focusing on possible transmission routes and public health risks. Transmission via humans (owners, workers, farm advisors, suppliers), animals (mink, pets, wildlife) and the environment (manure, air, dust) were considered. Five different introductions from humans to the mink population were identified. Three of five introductions resulted in ongoing transmission between mink farms. SARS-CoV-2 infections were detected in feral cats and two dogs at mink farms, and in two escaped mink, but not in wildlife. In total, 102 people directly exposed on mink farms were infected with SARS-CoV-2. On the other hand, spill-over of the mink-related SARS-CoV-2 variant to the general population was limited. Some farm-to-farm transmissions could be explained by shared employees, but the mode of farm-to-farm transmission was unknown for the majority of cases.

Samenvatting

In 2020 zijn 69 Nederlandse nertsenbedrijven besmet verklaard met SARS-CoV-2 en geruimd. Een One Health-onderzoeksconsortium deed uitgebreid onderzoek naar mogelijke transmissieroutes en volksgezondheidsrisico's. Overdracht via mensen (eigenaren, medewerkers, erfbetreders), dieren (nertsen, huisdieren, dieren in het wild) en het milieu (mest, lucht, stof) werd onderzocht.

Er werden vijf aparte momenten van introductie van SARS-CoV-2 door mensen in de nertsenpopulatie geïdentificeerd. Drie van de vijf introducties resulteerden in verdergaande transmissie tussen nertsenbedrijven. SARS-CoV-2 RNA werd gedetecteerd bij zwervkatten en twee honden op nertsenbedrijven en bij twee ontsnapte nertsen, maar niet bij dieren in het wild. SARS-CoV-2 werd bij 102 mensen op nertsenbedrijven vastgesteld, maar waarschijnlijk was

de verspreiding van nertserelateerde SARS-CoV-2 naar de algemene bevolking beperkt. Hoewel transmissie tussen nertsenbedrijven soms kon worden verklaard door gedeelde werknemers, bleef de wijze van overdracht in de meeste gevallen onbekend.

De multidisciplinaire aanpak was essentieel in het uitbraakonderzoek van dit nieuwe zoönotische virus en voor het ondersteunen van diergezondheids- en volksgezondheidsbeleid. Uiteindelijk besloot de Nederlandse regering het verbod op de pelsdierhouderij naar 2021 te vervroegen, vanwege het risico van ontwikkeling van een dierlijk SARS-CoV-2-reservoir en mogelijke gevolgen voor de volksgezondheid van waargenomen mutaties in het SARS-CoV-2-genoom.

Utrecht University, Utrecht, Faculty of Veterinary Medicine, Population Health Sciences, F.C. Velkers, veterinarian-epidemiologist; Royal GD, Deventer, R.J. Molenaar, veterinary pathologist; Dutch Mammal Society, Nijmegen, M. La Haye, animal ecologist - team coordinator; Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority (NVWA), Utrecht, M. Spierenburg, senior veterinary inspector; Utrecht University, Utrecht Institute for Risk Assessment Sciences (IRAS), L.A.M. Smit, environmental epidemiologist; Erasmus MC Rotterdam, R.S. Sikkema, virologist, Viroscience; Sovon Dutch Centre For Field Ornithology, Nijmegen; Wageningen Bioveterinary Research (WBVR), Lelystad, L.A.M. Smit.
Correspondence: r.sikkema@erasmusmc.nl

On behalf of the 'One Health mink outbreak investigation consortium' (in addition to the authors):

M. Augustijn (Royal GD), L. Begeman (Erasmus MC), R.W. Hakze-van der Honing (WBVR), R. Janssen (Dutch Mammal Society), T. Kuiken (Erasmus MC), M.P.G. Koopmans (Erasmus MC), P.A. Meijer (Utrecht University), B.B. Oude Munnink (Erasmus MC), W.H.M. van der Poel (WBVR), J. de Rond (Royal GD), R. Slaterus (Sovon), A.N. van der Spek (NVWA), J.A. Stegeman (Utrecht University)

The multidisciplinary nature of the research consortium was essential in the outbreak investigation of this novel zoonotic virus. Research outcomes were used to inform animal health and public health policy makers. The decision of the Dutch government to ban fur farming in 2021, earlier than initially planned, was based on the risk of the development of an animal SARS-CoV-2 reservoir, as well as the possible public health impact of the mutations that were found in the SARS-CoV-2 genome after introduction into the mink population.

Introduction

The potential role of animals in the origin and spread of SARS-CoV-2 has been discussed since its discovery. Following reports of incidental SARS-CoV-2 infections in animals in several countries, the ministries of Agriculture, Nature and Food Quality (LNV) and of Public Health, Welfare and Sport (VWS) announced further research into SARS-CoV-2 in farmed animals and cats [1]. On 24 April 2020, the first SARS-CoV-2 outbreak in production animals was reported at a mink farm in the Netherlands [2] and more outbreaks on mink farms were reported in the subsequent months [3,4]. In total, mink on 69 out of 126 Dutch mink farms were diagnosed with SARS-CoV-2. All infected farms were located in a farm-dense area in the Southeastern part of the Netherlands. The SARS-CoV-2 outbreak in mink

and associated humans was studied using a One Health approach, recognizing that human, animal and environmental health are closely linked and implementing a transdisciplinary approach. The aim was to gain timely insights in the ecology and spread of the virus, as well as in the impact on human and animal health.

Containment measures

After the first two outbreaks (24 and 25 April 2020), mink farm owners and their veterinarians were obligated to notify respiratory signs and increased mortality in mink to the Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority (NVWA). In May, it became clear that an employee of one of the infected mink farms possibly acquired COVID-19 through contact with infected mink. From 19 May onwards, SARS-CoV-2 was officially assigned as a notifiable infectious animal disease and strict biosecurity and biocontainment measures were implemented on all mink farms [5]. These initially (figure 1, HP1) included a ban on mink and manure transport, visitor restrictions and an advice to use personal protective equipment (PPE) and avoid working with mink in case of symptoms. Also, mink farmers were asked to prevent any contact between their mink and other animals, and to take measures to prevent cats, dogs and other animals leaving farm premises [4,5].

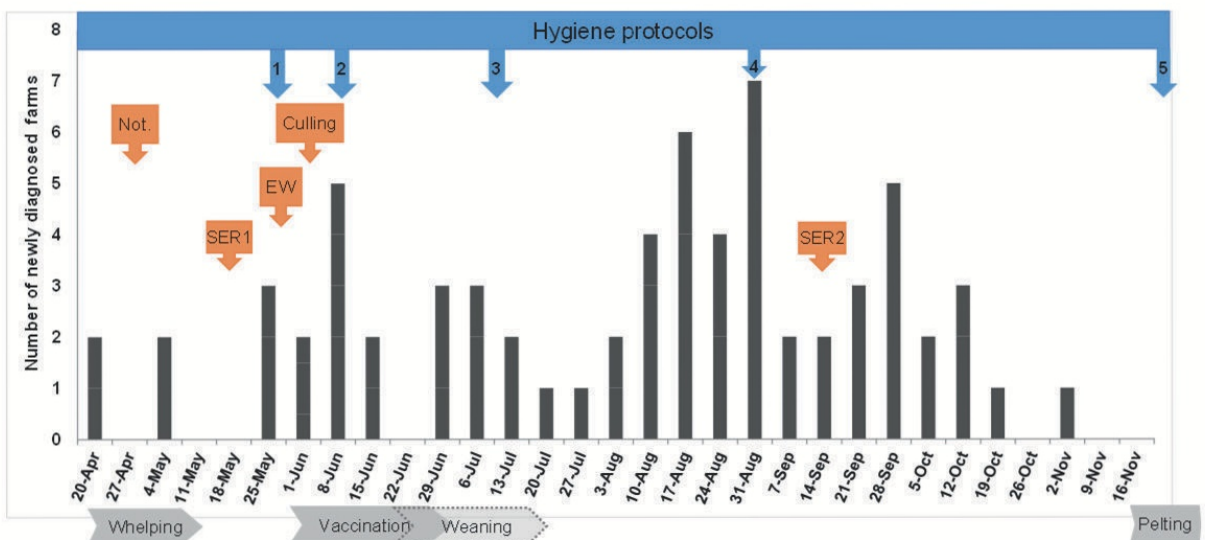
Mink farming in the Netherlands

Before the SARS-CoV-2 outbreaks, 4.5 million American mink (Neovison vison) were bred yearly on 126 Dutch farms, employing 1,200 full-time and 400 part-time individuals. Mink are the most common animal species farmed for fur production. Most of the world's farmed fur is produced in Europe, with the Netherlands ranking third after Denmark and Poland. Mink are kept in adjoining wire mesh cages with a nest box and bedding, often placed in open sheds (long roofs on piles without sidewalls) or halls. The feed is a liquid mixture of slaughter and fish waste which is placed on top of the wired cage. Adults are solitarily housed until females give birth in April and May. After weaning, the offspring is kept in small groups until most of them are euthanized at the end of the year to remove their pelts. In the same period the breeding stock for the next year (season) is selected.

From 3 June 2020 onwards, all mink of infected farms were culled [6]. From 9 June (figure 1, HP2) triage of workers and visitors was required and contacts of Covid-19 patients were not allowed to work with minks unless practically unfeasible, in which case surgical (IIR) face masks were required [7]. In July (figure 1, HP3), following increasing numbers of SARS-CoV-2 infections in employees, non-medical face masks and protective eyewear became mandatory on all mink farms and medical FFP2 face masks on farms that were

suspected to be infected and during culling. Furthermore, when one of the workers tested SARS-CoV-2 positive, NVWA had to be notified [7]. In September (figure 1, HP4), employees of infected mink farms were advised to get tested and restrictions on exchange of personnel between farms were put into effect [8]. For pelting on non-infected farms, additional hygiene measures (figure 1, HP5), including mandatory use of FFP2 face masks were implemented.

Figure 1. Overview of SARS-CoV-2 outbreaks on mink farms per week in 2020, in relation to implementation of the most important control measures and the mink farm cycle.



The numbered blue arrows point to implementation or adaptations of hygiene measures for people entering the mink farm (referred to as Hygiene Protocols (HP) 1-5) and orange arrows to other control and monitoring measures described in the text. Not = Covid-19 in minks assigned as notifiable infectious animal disease; EW = Early Warning; ZS = upscaling of Zoonosis Structure; S1 & S2: first and second serological screening. Below the graph: important mink farming periods, associated with intensive mink-human contact and additional personnel (note that the mating period (March) is not shown). Vaccinations were targeted at mink-related diseases (not SARS-CoV-2). Pelting continued until the beginning of December.

The ban on fur farming was enforced on 8 January 2021 instead of 2024, and currently no farmed mink are left in the Netherlands.

Clinical signs and surveillance

Mink

Clinical signs of SARS-CoV-2 infection in mink differed between animals and between farms, but most common signs were increased mortality, reduced feed intake, decreased activity and respiratory signs such as coughing and sneezing, eye and nasal discharge and dyspnea. At post-mortem, extensive pneumonia could be found in some mink. Mortality was slightly increased compared to the expected mink mortality [4,9]. Extensive random sampling on a selection of farms showed that fewer than 10 percent of SARS-CoV-2 ribonucleic acid (RNA) positive minks showed clinical signs, indicating that subclinical infections were common. An Early Warning (figure 1, EW) system was implemented on 25 May, which included mandatory weekly screening of recently dead minks on all farms. All dead minks, with a maximum of five (increased to 50 by the end of August) were tested weekly using naso-pharyngeal swabs by polymerase chain reaction (PCR) targeting the SARS-CoV-2 E gene [10]. A mandatory serological screening (figure 1, S1) started at the end of May and was carried out again in Sep-

tember (figure 1, S2). Blood on filter paper of 60 mink farm was obtained by toenail clipping and was tested for SARS-CoV-2 antibodies using an in-house (GD Animal Health) indirect ELISA validated for mink samples.

All mink farms suspected to be infected, based on reporting of clinical signs, EW or serological screening, were visited for official confirmational sampling. Thirty-two farms were found positive after notification of clinical signs to the NVWA and 37 farms after testing positive in EW or serological screening. Only one farm did not report any clinical sign (and no PCR positive nasal swabs were found).

Human

Symptoms of SARS-CoV-2 infected human individuals on mink farms varied from asymptomatic to mild respiratory symptoms, fever and/or loss of smell, one employee was admitted to the intensive care unit due to COVID-19.

The municipal health service (GGD) visited the first 16 infected farms for extensive human contact tracing, PCR testing and serum collection of people with possible exposure to infected mink [6]. Subsequent infected farms were not visited and owners, employees and farm visitors were expected to visit a regional SARS-CoV-2 testing facility in case of any symptoms indicative of COVID-19, in line with the national SARS-CoV-2 testing and surveillance policy. When people tested positive, contact tracing was executed. From 5 August onwards, testing policy was changed to allow for testing of personnel without clinical signs [11,12]. A total of 102 owners, family members and employees at 42 of the 69 farms (61 percent) tested SARS-CoV-2 positive.

To determine whether infections with mink strains of persons living near mink farms had occurred, a screening of a random selection of stored respiratory samples of COVID-19 patients in the same postal code region as the infected mink farms was executed between March 4 and April 29 [4] and between October 15 and November 15, using whole genome sequencing. In the first screening, no sequences (34 sequences) were found that clustered with the mink sequences. In the second screening, one sequence was found (189 sequences). The identified individual reported not having had any contact with mink farms, nor with people who lived or worked on mink farms. Two other sequences of individuals without any con-

The Dutch 'Zoonoses Structure'

The National 'Zoonoses Structure' is an integrated human-veterinary risk analysis structure according to which the collaboration between the Dutch Minister of Health, Welfare and Sport (VWS) and Minister of Agriculture, Nature and Food Quality (LNV) is organized in case of a crisis due to a zoonosis. In this structure, VWS has the leading role, but both Ministers have their own responsibilities with respect to the control and implementation of measures.

nection to mink (collected in July and October), clustering with mink sequences, were found in the regular SARS-CoV-2 genomic surveillance by RIVM and ErasmusMC. After November 2020, no mink-related sequences were found in the general Dutch population, indicating that there was no ongoing spread between humans of these mink variants.

Epidemiology

An epidemiological investigation was performed, for which information on several potential veterinary and human contacts and farm characteristics were collected. Moreover, human and mink samples with sufficiently high viral loads were sequenced to obtain their genetic code. Despite increasingly strict hygienic measures from May onwards and quick detection and culling of infected farms, new outbreaks occurred up to 20 November 2020 (figure 1).

Phylogenetic analyses of mink sequences indicated that the first introductions into mink farms had occurred several weeks before the detection of the first positive farms, and that these sequences were linked to human viruses circulating in the Netherlands at that time. In total, five different introductions from humans into mink farms were identified [6]. For three introductions (later referred to as 'clusters'), ongoing transmission between mink farms was seen, and one cluster was found in all outbreaks from September onwards (cluster A).

Viruses from different clusters were found in neighboring farms and in farms located further away from each other. Geographical clustering was increasingly found from August onwards and for the largest cluster A we indeed determined that nearby farms had a higher risk of infection. Epidemiological investigation showed that many farms shared the same veterinarian or feed supplier, but no unambiguous veterinary service company contacts were found between farms within the different virus clusters explaining the farm-to-farm spread. Only in a limited number of farms, transmission could be linked to shared personnel. Despite extensive analyses, other modes of transmission explaining the farm-to-farm spread were not found.

All human samples that could be sequenced ($n = 57$) contained mink strains [6]. All sequences of human workers were identical to the sequence cluster found at the mink farm where they worked, except for one

case where the human worker assisted during culling on another infected farm. In most cases (38/42 farms, 2 farms unknown), the date of the first positive human test result was in the same week or after the mink on the farm tested positive, making mink-to-human transmission the most likely scenario.

Air and environmental examination

To evaluate environmental and occupational health risks, SARS-CoV-2 contamination in environmental samples from three mink farms was investigated [13]. Considerable levels of SARS-CoV-2 RNA ($\sim 1,000$ to $10,000$ copies per m^3) were detected in air sampled in each of the farms. Dust samples, surfaces of mink cages, and bedding material were highly contaminated with SARS-CoV-2 RNA. Lower viral loads were found in fecal samples, feed leftovers, and swabs from the drinking water supply. Two weeks after all mink were culled, environmental sampling was repeated at one farm. SARS-CoV-2 RNA was still detectable in a substantial proportion of samples, especially in bedding material. Infectious virus was not detected. Outdoor air samples from the farm premises and at nearby locations (max. 1.5 km) all tested negative, apart from a few samples less than 10 meters from the entrance of one of the mink halls. Because of the negligible spread of the virus to the surrounding environment, the precautionary closure of roads for cyclists and pedestrians within 400 meters of the farms implemented after detection of the first two infected mink farms, was lifted on 15 May 2020.

Wildlife and domestic animals surrounding mink farms

Free-living animals (wildlife) may spread the virus by mechanical transmission (passive transfer of the virus, by means of a vector) or by excreting the virus at another farm once infected. Based on possible susceptibility for SARS-CoV-2 infection and abundance in the region with infected mink farms, mustelids (Mustelidae include mink but also weasels, badgers, ferrets, martens, amongst others), foxes, cats and bats were selected for further investigation. In addition, birds were studied to assess their potential role in mechanical virus transmission between farms. The open housing system of mink allowed access of birds, most free-ranging mustelids, foxes and cats into the farms. If a farm is accessed, mustelids, foxes, cats and multiple bird species are likely to have direct expo-



Left: Courtesy: Nederlandse Federatie van Edelpelsdierenhouders (NFE)
Right: Courtesy Jan de Rond (Royal GD)



sure to mink, their food or the litter underneath the cages.

SARS-CoV-2 RNA and/or antibodies were found in twelve (89 tested) feral cats and two dogs (13 tested) on 10 mink farms [14]. In addition, two escaped mink from infected farms tested PCR positive. Samples of free-living wild animals in the region with SARS-CoV-2-positive mink farms (50 carcasses and 755 feces samples from mustelids, foxes and bats) did not contain SARS-CoV-2 RNA. Therefore, it is unlikely that large-scale circulation of SARS-CoV-2 in free-living animals has occurred, and their role in SARS-CoV-2 transmission is probably negligible. The possibility of farm-to-farm transmission of SARS-CoV-2 by feral cats and escaped mink could not be excluded, but was also considered low.

Conclusions

Despite extensive research into possible routes of transmission and stricter measures in the course of the epidemic, control of SARS-CoV-2 spread between farms proved to be challenging. However, spill-over of mink viruses to the general human population remained limited. Also in other countries with SARS-CoV-2 outbreaks, such as Denmark, community spread did not appear to occur, although sufficiently detailed phylogenetic analyses of human and mink

sequences have not always been executed. Despite extensive outbreak investigations in several affected countries, critical gaps in knowledge remain regarding the exact modes of transmission. To date, large scale SARS-CoV-2 infections in other farmed animals have not been found, in line with infection experiments showing limited susceptibility to SARS-CoV-2 infection.

The decision to cull infected mink farms and to move the end date of fur farming forward to 2021 was taken after careful consideration of the risks for human and animal health. After introduction into mink populations, multiple changes in the virus genome were seen that can possibly influence virus transmissibility and antibody recognition. Moreover, continued circulation may lead to the establishment of a reservoir in mink, from which SARS-CoV-2 could be reintroduced into the human population. This is especially a concern because transmission could not be stopped with strict measures. With recent indications that the novel SARS-CoV-2 variants may have different host ranges [15], future animal surveillance remains imperative to prevent introduction and spread of SARS-CoV-2 in other animal populations.

Investigating transmission routes of novel zoonotic

pathogens such as SARS-CoV-2 requires intensive surveillance, information collection and contact tracing in the human, animal and environmental domain. As shown in the SARS-CoV-2 outbreak on mink farms, data collection and real-time exchange of information between human and veterinary institutes can be hampered by privacy legislation, high workload and other limitations. SARS-CoV-2 on mink farms is one example of an outbreak of a zoonotic pathogen in the Netherlands, preceded by avian influenza and Q-fever amongst others. Emergence and spread of novel viruses, involving animal reservoirs is expected to happen again in the future. Lessons learnt in this outbreak provide a good opportunity to make further improvements to prepare for future outbreaks that require a 'One Health' approach.

Acknowledgements

This work would not have been possible without the help of Municipal Health Services (GGD) Hart voor Brabant, GGD Brabant-Zuidoost, GGD Limburg-Noord, GGD Gelderland-Zuid, Stichting PAMM, Sanquin and many people at NVWA, GD, WBVR, ErasmusMC, Sovon and volunteers at the Dutch Mammal Society. Specifically we would like to mention: Wendy Wolters (UU), Myrna de Rooij (UU), Marcel Hulst (WBVR), Carien Radstake (Stray Cat Foundation Netherlands), Herman Limpens (Dutch Mammal Society), Jacintha van Dijk (Sovon), Bas Hissel (Sovon), Judith van den Brand (DWHC), Annemarie Bouma (LNV) and Yvonne de Nas (VWS). We are grateful for the help of the Nederlandse Federatie van Edelpelsdierenhouders (NFE), owners of the mink farms and the veterinarians of Pecon B.V. The project was financed by the ministry of Health, Welfare and Sport, and the ministry of Agriculture, Nature and Food Quality.

References

1. Kamerbrief Ministerie van LNV. COVID-19 en mogelijke relatie met dieren, 22 April 2020.
2. Oreshkova N, Molenaar RJ, Vreman S, et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveill.* 2020;25(23).
3. Boklund A, Gortazar C, Pasquali P, et al. Scientific Opinion on the monitoring of SARS-CoV-2 infection in mustelids. *EFSA Journal.* 2021;19:6459.
4. Oude Munnink BB, Sikkema RS, Nieuwenhuijse DF, et al. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. *Science.* 2021;371:172-7.
5. Kamerbrief Ministerie van LNV. Stand van zaken onderzoek COVID-19 naar nertsensbedrijven. 19 May 2020.
6. Kamerbrief Ministeries van VWS en LNV. Aanvullende maatregelen voor nertsensbedrijven, 3 June 2020.
7. Kamerbrief Ministeries van VWS en LNV. SARS-CoV-2 infecties bij dieren diversen, 10 July 2020.
8. Kamerbrief Ministeries van VWS en LNV. Stand van zaken SARS-CoV-2 bij nertsens, OMT-Z advies en voorgenomen beleid nertsenshouderij, 28 Augustus 2020.
9. Molenaar RJ, Vreman S, Hakze-van der Honing RW, et al. Clinical and Pathological Findings in SARS-CoV-2 Disease Outbreaks in Farmed Mink (*Neovison vison*). *Vet Pathol.* 2020;57:653-7.
10. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25:2000045.
11. Kamerbrief Ministeries van VWS en LNV. Stand van zaken SARS-CoV-2 bij nertsens, 20 July 2020.
12. RIVM, Advies n.a.v. OMT-Z nertsens en SARS-CoV-2, 17 July 2020.
13. de Rooij MMT, Hakze-Van der Honing RW, Hulst MM, et al. Occupational and environmental exposure to SARS-CoV-2 in and around infected mink farms. *Occup Environ Med.* 2021; doi: 10.1136/oemed-2021-107443.
14. van Aart AE, Velkers FC, Fischer EAJ, et al. SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in infected mink farms. *Transbound Emerg Dis.* 2021; doi: 10.1111/tbed.14173.
15. Montagutelli X, Prot M, Levillayer L, et al. The B1.351 and P.1 variants extend SARS-CoV-2 host range to mice. *bioRxiv* 2021: 2021.03.18.436013.

Het microbioom in de zoönotische transmissie van antibioticumresistentie

Anita Schürch, Lapo Mughini-Gras, Birgitta Duim, Rob Willems

Samenvatting

Antibioticumgebruik bij landbouwhuisdieren selecteert voor antibioticumresistentie. Door zoönotische transmissie kan antibioticumresistentie ook op de mens worden overgedragen. Maar in hoeverre vormt dit een volksgezondheidsrisico? Moleculair-epidemiologische studies van antibioticum-resistentiegenen en klonen van bijzonder resistente micro-organismen, zoals vancomycine-resistente *Enterococcus faecium* (VRE), 'extended spectrum bètalactamase' (ESBL)-producerende *Escherichia coli* en meticilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) hebben aangetoond dat, behalve mogelijk bij MRSA, er geen verband lijkt te zijn tussen de verschillende One Health-reservoirs en ziekenhuis-infecties.

Bijzonder resistente micro-organismen zijn onderdeel van en interacteren met gemeenschappen van micro-organismen, het microbioom, in de gastheer. Het microbioom kan een beschermende werking hebben, bijvoorbeeld door antagonistische interacties tussen microbiota en resistente micro-organismen, maar kan ook als reservoir voor antibioticumresistentiegenen dienen. Veel antibioticumresistentiegenen zijn te vinden op mobiele genetische elementen, zoals plasmiden, die een complex patroon van verspreiding tussen bacteriën kunnen vertonen. Het in kaart brengen van het microbioom van mensen, dieren en de omgeving is daarom een belangrijk onderdeel in het volgen en het voorkomen van de verspreiding van antibioticumresistentiegenen tussen verschillende reservoirs.

Summary

Antibiotic use in livestock selects for antibiotic resistance, but to which extent does zoonotic transmission to humans pose a public health risk? Molecular epidemiological studies on antibiotic resistance genes and clones of vancomycin-resistant *E. faecium*, MRSA and ESBL-producing *E. coli* showed varying degrees of association between different One

Health reservoirs and hospital infections.

These bacteria are part of and interact with other microorganisms (the microbiome) in their host. The microbiome can have a protective effect through antagonistic interactions between the microbiota and antibiotic-resistant organisms but can also act as a reservoir for antibiotic resistance genes. Many antibiotic resistance genes are located on mobile genetic elements such as plasmids and can follow a complex pattern of dissemination between bacteria. Elucidating the microbiomes of humans, animals and the environment and the flow of antibiotic resistance genes is important to understand and limit the spread of antibiotic resistance.

Introductie

Antibioticumresistente bacteriën verspreiden zich tussen mensen, dieren en de omgeving. Het in kaart brengen en tegengaan van de verspreiding van antibioticumresistentie vraagt daarom om een One Health-benadering. Drie voorbeelden van bijzonder resistente micro-organismen die voorkomen bij mens en dier zijn vancomycine-resistente *Enterococcus faecium* (VRE), meticilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA), en 'extended spectrum bètalactamase' (ESBL)-producerende *Escherichia coli*. De eerste twee behoren tot de groep van zogeh-

UMC Utrecht, Medische Microbiologie,
dr. Schürch, universitair docent; prof. R. Willems,
hoogleraar Population genetics of antibiotic
resistance

Universiteit Utrecht, Institute for Risk Assessment
Sciences (IRAS), Rijksinstituut voor
Volksgezondheid en Milieu (RIVM),
dr. L. Mughini-Gras, universitair hoofddocent
Universiteit Utrecht, Diergeneeskunde, dr. Birgitta
Duim, universitair docent
Correspondentieadres:
a.c.schurch@umcutrecht.nl

ten ESKAPE-organismen (*E. faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* species), pathogenen die in belangrijke mate verantwoordelijk zijn voor ziekenhuisinfecties [1].

E. faecium, *S. aureus* en *E. coli* zijn alle drie opportunistische pathogenen. Bij zowel mensen als dieren kunnen *E. faecium* en *E. coli* ook als commensaal voorkomen in de darm [2], terwijl *S. aureus* een commensaal van de neus, huid en darm kan zijn [3,4]. Ze kunnen daarmee dus ook deel uitmaken van complexe consortia van micro-organismen, de microbiota, die voorkomen op en in gastheren en de omgeving. Daarnaast kunnen deze pathogenen ernstige infecties veroorzaken bij ziekenhuispatiënten (*E. faecium*, *S. aureus* en *E. coli*) en in de open populatie (*S. aureus* en *E. coli*). Een complicerende factor hierbij is dat antibioticum-resistentie frequent voorkomt bij deze pathogenen, zoals vancomycine-resistentie in *E. faecium*, methicilline-resistentie in *S. aureus* en resistentie tegen bètalactamantibiotica door de productie van ESBL in *E. coli*.

Veel antibioticumresistentiegenen zijn gelegen op mobiele genetische elementen zoals plasmiden en transposons [5]. Deze mobiele genetische elementen voorzien bacteriën van de mogelijkheid om verschillende eigenschappen, zoals antibioticum-resistentie of andere virulentiefactoren, horizontaal aan elkaar over te dragen. Alle mobiele genetische elementen in een microbioom worden 'het mobiloom' genoemd [6] (zie tabel 1 voor definities van de verschillende 'ooms'). Om te beginnen zullen we in dit

artikel samenvatten in hoeverre dierlijke bronnen een bijdrage hebben geleverd aan de prevalentie van VRE, MRSA en ESBL-*E. coli* bij mensen.

Zoönotische transmissie van *E. faecium*

In Europa werden VRE in de jaren 90 van de vorige eeuw vooral gevonden bij landbouwhuisdieren, wat verband bleek te houden met het gebruik van avoparcine, net als vancomycine een glycopeptide antibioticum dat als antimicrobiële groeibevorderaar aan vleeskuikens, varkens, kalkoenen en mestkalveren werd toegediend [8-12].

In ziekenhuizen in Europa nam de prevalentie van VRE pas toe na de eeuwwisseling [13]. Sinds 2012 registreert het signaleringsoverleg ziekenhuisinfecties en antimicrobiële resistentie (SO-ZI/AMR) het aantal ziekenhuisuitbraken met VRE in Nederland. Volgens SO-ZI/AMR zijn er jaarlijks 10 tot 15 ziekenhuisuitbraken en in totaal rapporteerde SO-ZI/AMR 106 uitbraken met VRE sinds 2012. Deze VRE-uitbraken vormen 20 tot 32 procent van alle ziekenhuisuitbraken in Nederland [14].

Omdat VRE uit landbouwhuisdieren via de voedselketen zich ook naar mensen en daarmee naar ziekenhuizen zouden kunnen verspreiden, werd het reservoir van VRE in landbouwhuisdieren als een potentieel volksgezondheidsrisico gezien. Als gevolg daarvan werd het gebruik van avoparcine als groeibevorderaar in 1997 in de Europese Unie verboden [15]. Of zoönotische transmissie daadwerkelijk een belangrijke rol speelt bij de toename van VRE-infecties en -uitbraken in ziekenhuizen is onder-

'-oom'	Definitie
microbioom	Alle micro-organismen en het hele spectrum van moleculen geproduceerd door deze micro-organismen zoals DNA, eiwit, lipiden, polysachariden en metabolieten [7]
microbiota	Alle levende organismen van het microbioom
metagenoom	Alle genomen en genen van het microbioom
mobiloom	Alle mobiele genetische elementen van het microbioom
resistoom	Alle antimicrobiële/antibioticumresistentiegenen van het microbioom
plasmidoom	Alle plasmid sequenties van het microbioom of van een bacterie (populatie).

Tabel 1.
Definities

zocht in verschillende moleculair-epidemiologische studies. Uit al deze studies bleek dat op basis van 'whole genome sequencing' (WGS) het overgrote deel van ziekenhuisstammen tot een aparte genetische subpopulatie, genaamd clade A1, behoren [16,17], terwijl dit slechts geldt voor 0,5 procent van *E. faecium*-stammen uit landbouwhuisdieren. Dit betekent dat *E. faecium*-stammen uit landbouwhuisdieren niet identiek zijn aan de stammen die circuleren in ziekenhuizen. Vancomycine-resistentie kan horizontaal worden verspreid doordat de meest voorkomende vancomycine-resistentiegenen, vanA en vanB, gelegen zijn op mobiele genetische elementen. Uit WGS-studies blijkt dat het plasmidoom van *E. faecium*, dat wil zeggen het totaal aantal plasmidesequenties, dezelfde ecotypestructuur volgt als *E. faecium*-stammen [16]. Dat betekent dat het plasmidoom van VRE afkomstig van ziekenhuispatiënten verschilt van het plasmidoom van VRE afkomstig van landbouwhuisdieren.

Samenvattend blijkt uit deze studies dat zoönotische transmissie van vancomycine-resistentie, via zowel stammen als plasmiden, van landbouwhuisdieren naar ziekenhuispatiënten zeer beperkt lijkt te zijn.

MRSA in varkens-neuzen

In 1986 werd in Nederland de eerste MRSA die een ziekenhuisuitbraak veroorzaakte, gerapporteerd, zo'n 30 jaar na de introductie van penicilline [18]. Meticilline-resistentie ontstaat door opname van een mobiel genetische element Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) genoemd, dat het mecA-gen bevat. Naast het verkrijgen van mecA, werden in de loop van de tijd ook andere antibioticum-resistentiegenen via horizontale genoverdracht verkregen, waardoor MRSA-stammen multiresistent werden. Er worden drie typen MRSA onderscheiden, op basis van resistentiepatroon, multi-locus sequence typing (MLST) en SCCmec-type: de 'community-associated MRSA' (CA-MRSA), 'hospital-associated MRSA' (HA-MRSA), en 'livestock-associated MRSA' (LA-MRSA), waarvan de epidemiologie in Nederland wordt gevolgd door het RIVM.

LA-MRSA (CC398) werd in Nederland voor het eerst beschreven in 2005 [19] en in 2015 was de prevalentie van LA-MRSA bij varkens in het slachthuis 99,5 procent [19,20]. Verschillende studies hebben aangetoond dat door direct contact met dieren of door blootstelling aan het stof in de stal, een varkensboer gekoloniseerd kan

raken met LA-MRSA [21,22]. Hierdoor werd dit reservoir gezien als een potentieel volksgezondheidsrisico, maar uit onderzoek bleek dat LA-MRSA slechts tijdelijk in de neus van mensen aanwezig bleef en transmissie van LA-MRSA tussen patiënten in ziekenhuizen laag was. Desondanks wordt er toch een toename gezien van patiënten die LA-MRSA bij zich dragen bij ziekenhuisopname en die geen voorgeschiedenis hebben van contact met landbouwhuisdieren [23], wat een druk legt op het nationale 'search and destroy'-beleid. Daarnaast werd er in 2016 een variant van LA-MRSA beschreven die efficiënter was in transmissie en beter aangepast voor kolonisatie bij mensen [24], wat benadrukt dat stammen in het LA-MRSA-reservoir kunnen muteren of genen kunnen opnemen, waardoor virulentere LA-MRSA-stammen kunnen ontstaan die wel een potentieel risico vormen voor de volksgezondheid.

Om de prevalentie van LA-MRSA in landbouwhuisdieren te verlagen, zou er gekozen kunnen worden voor een 'competitive exclusion'-strategie. Bij 'competitive exclusion' vindt er prekolonisatie plaats waardoor uitgroei van ongewenste bacteriën wordt voorkomen. Dit wordt al toegepast voor onder andere het verminderen van ESBL-producerende Salmonella en *E. coli* in de kippendarm [19,25,26].

ESBL's bij de mens

Historisch zijn ESBL-infecties geassocieerd met zorginstellingen [27], maar sinds de eeuwwisseling komen ESBL-infecties bij de algemene bevolking voor. ESBL-producerende bacteriën komen ook voor bij dieren en als gevolg daarvan in voedsel en het milieu. De verspreiding van ESBL's is complex, ook omdat ESBL-genen meestal op plasmiden liggen. Verschillende studies hebben aangetoond dat in Nederland ongeveer 5 procent van de bevolking ESBL-producerende bacteriën bij zich draagt [28-30].

Naast antibioticumgebruik, buitenlandse reizen (met name Azië en Afrika) [28] en ziekenhuisopname is beroepsmatige blootstelling aan dieren een risicofactor voor ESBL-dragerschap [31]; wonen in een gebied met veel veehouderijen is dat niet [30,32]. Landbouwhuisdieren, en kippen in het bijzonder, hebben veel aandacht gekregen als mogelijke ESBL-bron voor de mens vanwege de hoge ESBL-prevalentie en consumptie van kippenvlees [27,33]. Hoewel het simultaan optreden van ESBL-genen, plasmiden of bacterieklonen bij kippen en mensen in eerste instantie

deed vermoeden dat pluimvee een belangrijke bron van infectie zijn [27], werden dezelfde genen en plasmiden ook in andere reservoirs aangetroffen [34]. Bovendien is gebleken dat de ESBL-genen die bij mensen worden gevonden anders zijn dan de ESBL-genen bij vee en pluimvee [34].

Om meer inzicht te krijgen in hoeverre ESBL's uit dieren, voedsel, milieu en mensen zelf bijdragen aan het totale dragerschap van ESBL's in de algemene bevolking, werd in een modelleringsstudie gebruikgemaakt van gegevens over verschillende soorten ESBL-genen bij *E. coli* geïsoleerd uit verschillende bronnen, de prevalentie en de frequentie van blootstelling daaraan [35]. Volgens het rekenmodel is de overdracht van mens op mens verantwoordelijk voor meer dan 60 procent van het dragerschap onder de algemene bevolking. De bijdrage van voedsel werd geschat op ongeveer 19 procent, contact met huisdieren op 8 procent, niet-beroepsmatig contact met vee op 4 procent, en zwemmen in oppervlaktewater en contact met wilde vogels op 3 procent. Dit betekent dat overdracht van ESBL's voornamelijk gebeurt tussen mensen onderling en dat mensen ESBL's in mindere mate verkrijgen via de dieren, dierlijk voedsel en het milieu. Deze bronattributie-analyse ondersteunt andere studies die concludeerden dat ESBL's bij de mens slechts in beperkte mate kunnen worden toegeschreven aan dierlijke bronnen en oppervlaktewater [34,36].

Inzicht in het microbioom

Naast studies naar zoönotische transmissie van antibioticumresistentiegenen in individuele micro-organismen kunnen microbioomanalyses ons meer inzicht geven in de dynamiek van het mobiloom en interacties tussen micro-organismen.

Tot op heden is er nog weinig bekend over de dynamiek van horizontale overdracht van antibioticumresistentiegenen in natuurlijke microbiële ecosystemen [37]. Dit is voor een deel te wijten aan de technische complexiteit van het detecteren en karakteriseren van het mobiloom in complexe microbiële ecosystemen [37].

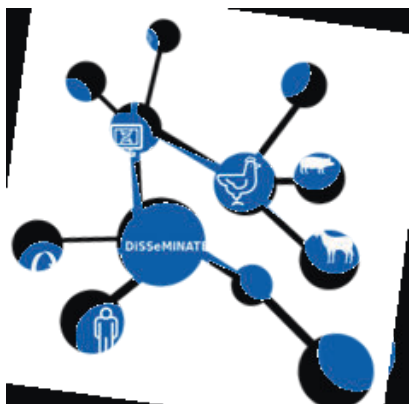
Voor het in kaart brengen van de taxonomische en functionele samenstelling van het microbioom wordt al het genetisch materiaal, het metagenoom (tabel 1), van een complex microbiële monster, bijvoorbeeld feces, gesequencet en geanalyseerd. Op deze manier kunnen bacteriën en bacteriële functies worden geïdentificeerd

zonder dat deze bacteriën in het laboratorium gekweekt moeten worden [38].

Metagenoomsequencing is echter niet voldoende om alle antibioticumresistentiegenen (het resistoom, tabel 1) te kunnen identificeren, omdat deze soms voorkomen in bacteriële populaties met een lage dichtheid, die zich dus onder de detectielimiet bevinden [39]. Onder de radar kunnen deze minderheidspopulaties een reservoir vormen voor het verspreiden van mobiele genetische elementen die antibioticumresistentiegenen dragen [40]. Door antibioticumresistentiegenen in een metagenoom preferentieel te sequencen, kan de detectielimiet omlaag gebracht worden [39]. Mobiele genetische elementen zijn lastig te identificeren in metagenoom-datasets omdat deze elementen vaak repetitieve DNA-elementen bevatten, wat het assembleren en daarmee het identificeren bemoeilijkt [6]. Het gebruik van gespecificeerde databanken voor mobiele genetische elementen (zoals bijvoorbeeld voor plasmiden) kan het identificeren van deze elementen bevorderen. Daarnaast kan de aanwezigheid van mobiele genetische elementen worden voorspeld op basis van specifieke karakteristieken, zoals circulariteit in het geval van plasmiden [41], al dan niet met behulp van kunstmatige intelligentie [42].

In 2020 is het DiSSeMINATE-project gestart (Drivers of Selection and Spread of Mobile Genetic Elements INvolved in Antimicrobial Resistance), gefinancierd door het Netherlands Centre for One Health (NCOH) en Top Sector Life Sciences & Health [43] (figuur 1). In dit project worden metagenoomtechnieken toegepast op monsters van dieren en milieu. Het doel is om in detail de uitwisseling van antibioticumresistentiegenen en mobiele genetische elementen tussen bacteriën uit deze ecosystemen te bestuderen, en om te onderzoeken of deze ecosystemen belangrijke reservoirs vormen waarvandaan mobiele resistentie zou kunnen worden overgedragen op de mens. Zo kan men de overdracht van antibioticumresistentiegenen tussen bacteriën bestuderen.

Epidemiologische en experimentele gegevens worden ten slotte gemodelleerd om de bijdrage van de veehouderij aan het dragerschap van antibioticumresistentie te beschrijven. Deze modellen vormen de basis van risicoanalyses en scenariostudies om risico's voor de mens en dier te kunnen beschrijven. Binnen het sinds 2018 lopende MRSA-PREVENT project [44] worden metagenoomtechnieken gebruikt



Figuur 1. Het logo van het in 2020 gestarte NCOH/Health Holland 'DiSSeMINATE' (Drivers of Selection and Spread of Mobile Genetic Elements INvolved in Antimicrobial Resistance) project toont een netwerk met een selectie van gastheren die in het project onderzocht worden (varkens, geiten, kippen, mens en de omgeving) en toegepaste technieken (sequencing, bioinformatica, modellering).

om de competitie tussen LA-MRSA en andere bacteriële species te bestuderen (Patel, et al., accepted). De eerste resultaten toonden aan dat er antagonisten tegen *S. aureus* aanwezig zijn in de neus van varkens, waarvan onderzocht wordt of deze de kolonisatie van LA-MRSA bij landbouwhuisdieren kunnen verminderen.

Conclusies

Uit studies naar verspreiding van specifieke bijzonder resistente micro-organismen tussen landbouwhuisdieren en de mens blijkt dat er weinig aanwijzingen zijn voor een volksgezondheidsrisico. leidt. Deze studies beschrijven echter maar een fractie van verspreidingsmogelijkheden van antibioticum-resistentiegenen in complexe ecosystemen tussen One Health-reservoirs. Daarnaast is er meer inzicht nodig naar de rol van antagonisten die door competitie de groei van bijzonder resistente micro-organismen kunnen beperken. Via het onderzoek in de projecten DiSSeMINATE en MRSA-PREVENT wil men proberen deze witte plekken in kaart te brengen, om zo de risico's van verspreiding van antibioticum-resistentie tussen One Health-reservoirs beter in te schatten en te beperken.

Dankwoord

Het DiSSeMINATE-samenwerkingsproject is medegefinancierd met PPS-toeslag die Health~Holland, Topsector Life Sciences & Health beschikbaar heeft gesteld ter stimulering van publiek-private samenwerkingen.

Referenties

1. De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 2020;33.
2. Isendahl J, Giske CG, Hammar U, et al. Temporal Dynamics and Risk Factors for Bloodstream Infection With Extended-spectrum β -Lactamase-producing Bacteria in Previously-colonized Individuals: National Population-based Cohort Study. *Clin Infect Dis.* 2019;68:641-9.
3. Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis.* 2005;5:751-62.
4. Peton V, Le Loir Y. *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. *Infect Genet Evol.* 2014;21:602-15.
5. Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO. Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31.
6. Carr VR, Shkoporov A, Hill C, Mullany P, Moyes DL. Probing the Mobilome: Discoveries in the Dynamic Microbiome. *Trends Microbiol.* 11 mei 2020;
7. Berg G, Rybakova D, Fischer D, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome.* 30 juni 2020;8:1-22.
8. Wegener HC. Historical yearly usage of glycopeptides for animals and humans: the American-European paradox revisited. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42:3049.
9. Bates J. Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci in the community and the relevance of farm animals to human infection. *J Hosp Infect.* 1997;37:89-101.
10. McDonald LC, Kuehnert MJ, Tenover FC, Jarvis WR. Vancomycin-resistant enterococci outside the health-care setting: prevalence, sources, and public health implications. *Emerg Infect Dis.* 1997;3:311-7.
11. Klare I, Heier H, Claus H, Reissbrodt R, Witte W. vanA-mediated high-level glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from animal husbandry. *FEMS Microbiol Lett.* 1995;125:165-71.
12. Bates J, Jordens Z, Selkon JB. Evidence for an animal origin of vancomycin-resistant enterococci. *Lancet.* 1993;342:490-1.
13. Zhou X, Willems RJL, Friedrich AW, Rossen JWA, Bathoorn E. *Enterococcus faecium*: from microbiological insights to practical recommendations for infection control and

diagnostics. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2020;9:130.

14. de Greeff SC, Schoffelen AF, Verduin CM. MARAN 2020: Monitoring of Antimicrobial Resistance and Antibiotic Usage in Animals in the Netherlands in 2019 [Internet]. 2020.

15. Anonymous. Commission directive 97/6/EC. *Official J Eur Commun*. 1997;35:11-3.

16. Arredondo-Alonso S, Top J, McNally A, et al. Plasmids Shaped the Recent Emergence of the Major Nosocomial Pathogen *Enterococcus faecium*. *MBio*. 2020;11.

17. Lebreton F, van Schaik W, McGuire AM, et al. Emergence of epidemic multidrug-resistant *Enterococcus faecium* from animal and commensal strains. *MBio*. 2013;4:e00534-13.

18. van Keulen PH, Schipper HG, Mulder-van der Heide MJ, Zanen HC. An epidemic in a hospital caused by a methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus*. *Ned Tijdschr Geneesk*. 1986;130:449-51.

19. Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1965-6.

20. Dierikx CM, Hengeveld PD, Veldman KT, et al. Ten years later: still a high prevalence of MRSA in slaughter pigs despite a significant reduction in antimicrobial usage in pigs the Netherlands [Internet]. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71:2414-8.

21. Bos MEH, Verstappen KM, van Cleef BAGL, et al. Transmission through air as a possible route of exposure for MRSA. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2016;26:263-9.

22. van Cleef BAGL, van Benthem BHB, Verkade EJM, et al. Dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* carriage in pig farmers: a prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20:O764-71.

23. Lekkerkerk WSN, van de Sande-Bruinsma N, van der Sande MAB, et al. Emergence of MRSA of unknown origin in the Netherlands. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:656-61.

24. Larsen J, Stegger M, Andersen PS, et al. Evidence for Human Adaptation and Foodborne Transmission of Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Table 1 [Internet]. *Clin Infect Dis*. 2016;63:1349-52.

25. Ceccarelli D, van Essen-Zandbergen A, Smid B, et al. Competitive Exclusion Reduces Transmission and Excretion of Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Broilers. *Appl Environ Microbiol*. 2017;83.

26. Nakamura A, Ota Y, Mizukami A, et al. Evaluation of aviguard, a commercial competitive exclusion product for efficacy and after-effect on the antibody response of chicks to *Salmonella*. *Poult Sci*. 2002;81:1653-60.

27. Leverstein-van Hall MA, Dierikx CM, Cohen Stuart J, et al. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:873-80.

28. van den Bunt G, van Pelt W, Hidalgo L, et al. Prevalence, risk factors and genetic characterisation of extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (ESBL-E and CPE): a community-based cross-sectional study, the Netherlands, 2014 to 2016. *Euro Surveill*. 2019;24.

29. van den Bunt G, Liakopoulos A, Mevius DJ, et al. ESBL/

AmpC-producing *Enterobacteriaceae* in households with children of preschool age: prevalence, risk factors and carriage. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72:589-95.

30. Wielders CCH, van Hoek AHAM, Hengeveld PD, et al. Extended-spectrum β -lactamase- and pAmpC-producing *Enterobacteriaceae* among the general population in a livestock-dense area [Internet]. *Clinical Microbiology and Infection*. 2017;23:e1-120.e8.

31. Huijbers PMC, Graat EAM, Haenen APJ, et al. Extended-spectrum and AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers and people living and/or working on broiler farms: prevalence, risk factors and molecular characteristics. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:2669-75.

32. Huijbers PMC, de Kraker M, Graat EAM, et al. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in humans living in municipalities with high and low broiler density. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:E256-9.

33. Dierikx C, van der Goot J, Fabri T, et al. Extended-spectrum- β -lactamase- and AmpC- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:60-7.

34. Dorado-García A, Smid JH, van Pelt W, et al. Molecular relatedness of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from humans, animals, food and the environment: a pooled analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73:339-47.

35. Mughini-Gras L, et al. Attributable sources of community-acquired carriage of *Escherichia coli* containing β -lactam antibiotic resistance genes: a population-based modelling study. *Lancet Planet Health*. 2019;3:e357-69.

36. Ludden C, Raven KE, Jamrozny D, et al. One Health Genomic Surveillance of *Escherichia coli* Demonstrates Distinct Lineages and Mobile Genetic Elements in Isolates from Humans versus Livestock. *MBio*. 2019;10.

37. Brito IL. Examining horizontal gene transfer in microbial communities. *Nat Rev Microbiol*. 2021

38. Saheb KS, Almeida A, Segre JA, Finn RD. Recovering prokaryotic genomes from host-associated, short-read shotgun metagenomic sequencing data. *Nat Protoc*. 2021;16.

39. Lanza VF, Baquero F, Martínez JL, et al. In-depth resistome analysis by targeted metagenomics. *Microbiome*. 2018;6:11.

40. Bakkeren E, Huisman JS, Fattinger SA, et al. *Salmonella* persists promote the spread of antibiotic resistance plasmids in the gut. *Nature*. 2019;573:276-80.

41. Rozov R, Kav Brown A, Bogumil D, et al. Recycler: an algorithm for detecting plasmids from de novo assembly graphs [Internet]. *Bioinformatics*. 2017;33:475-82.

42. Hilpert C, Bricheux G, Debroas D. Reconstruction of plasmids by shotgun sequencing from environmental DNA: which bioinformatic workflow? *Brief Bioinform*. 2020.

43. Project description DiSSeMINATE [Internet]. 2020 [geciteerd 1 juni 2021]. <https://www.health-holland.com/project/2019/spread-of-mobile-antimicrobial-resistance>

44. Projectomschrijving MRSA-prevent [Internet]. [geciteerd 1 juni 2021]. <https://www.zonmw.nl/nl/onderzoek-resultaten/geneesmiddelen/programmas/project-detail/antibiotica-resistentie-abr/mrsa-prevent-control-of-mrsa-in-the-pig-nasal-microbiome-to-prevent-transmission-to-humans/>

Het microbioom in een veerkrachtige veehouderij

Johanna Rebel, DirkJan Schokker, Ingrid van Dixhoorn, Alex Bossers, Bas Kemp

Samenvatting

De veehouderij staat voor verschillende uitdagingen, zoals vermindering van het antibioticumgebruik, een meer regionale en circulaire productie van veevoer en de risico's vanuit de veehouderij voor de humane gezondheid. Om als veehouderij met deze diverse risico's om te kunnen gaan, is een veerkrachtige veehouderij wenselijk. Een van de mogelijkheden om de veerkracht van dieren aan te passen is via het microbioom. Het microbioom beïnvloedt de ontwikkeling van het immuunsysteem en via de darm-hersenas ook het welzijn. Via het microbioom kan daarom zowel de gezondheid als het welzijn van dieren en daarmee de veerkracht worden gemoduleerd. Dit kan door het microbioom direct aan te passen, via microbiële overdracht, of indirect via voeding of huisvestingsstrategieën. Zo kan in de toekomst sturing via het microbioom een belangrijke route zijn om de veerkracht van de veehouderij, met daarbij gezondheid en welzijn, te verbeteren

Summary

Livestock farming faces different challenges, such as reducing the use of antibiotics, feed that must be produced regionally and more circularly, and risks from livestock farming for human health. Resilient livestock is desirable to be able to deal with these various risks. One of the possibilities to modulate the resilience of animals is through the microbiome. The microbiome influences the development of immune system and through the gut-brain axis also welfare. The microbiome can therefore modulate both health and welfare of animals and thereby their resilience. This can be a direct change of the microbiome, via microbial transfer or indirectly via feeding or housing strategies. In the future, control via the microbiome can be a route to improve the resilience of livestock, including health and welfare.

Veehouderij

Het houden van dieren, met oog voor gezondheid en welzijn van dier en mens, is van belang om in hoogwaardig voedsel te voorzien. Op dit moment staat door maatschappelijke discussie de veehouderij onder druk, onder meer vanwege risico's voor volksgezondheid en suboptimaal dierenwelzijn. Daarnaast moet een transitie plaatsvinden naar een meer circulaire landbouw, waarbij het opwaarderen en benutten van reststromen essentieel is (visie Minister Schouten van LNV; Waardevol en Verbonden, 2018). De circulaire voerconcepten mogen echter geen risico's met zich meebrengen voor diergezondheid en dierenwelzijn. Het is daarom van belang om te werken aan een gezonde veehouderij die niet is gebaseerd op substantieel gebruik van medicijnen en die geen negatieve impact heeft op gezondheid van de mens en de omgeving.

Centraal staat de vraag hoe we de veehouderij zo stabiel of evenwichtig en probleemloos mogelijk kunnen maken, waarbij we risico's op dierziekten en antibioticumgebruik zo goed mogelijk kunnen beheersen. In het verleden werd er met name gestreefd naar maximale en efficiënte productie. Genetische selectie was vooral gericht op maximale productiviteit en de kostprijs werd zoveel mogelijk gereduceerd. Dit leidde tot kwetsbare veehouderijsystemen waarbij verstoringen zoveel mogelijk moesten worden voorkomen.

Wageningen University and Research, Wageningen Livestock Research, the Netherlands, prof. dr. J. Rebel, dr. D. Schokker, dr. I. van Dixhoorn. Wageningen University & Research, Adaptation Physiology Group, the Netherlands, prof. dr. J. Rebel, prof. dr. B. Kemp. Wageningen University and Research, Wageningen Bioveterinary Research, the Netherlands, dr. A. Bossers. Institute for Risk Assessment Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, the Netherlands, dr. A. Bossers. Contactpersoon: prof. dr. J. Rebel (annemarie.rebel@wur.nl)

Dit vereiste ook een hoog niveau van bioveiligheid, om insleep van ziekten te voorkomen. Hierdoor ontstaat een sterk beheerste leefomgeving voor een dier dat geselecteerd is voor hoge, efficiënte productie. Zo'n aanpak is in veel gevallen effectief, wanneer aan de vaak hoge technologische eisen voldaan kan worden. Toch zijn niet alle mogelijke verstoringen te controleren of buiten het systeem te houden en zullen er meestal curatieve maatregelen genomen moeten worden, bijvoorbeeld via antibioticumgebruik om een bacteriële infectie te bestrijden.

Veerkracht

Bij een veerkrachtig systeem staat niet maximalisatie van productie centraal, maar staan de specifieke dierbehoeften centraal (gezondheid en welbevinden). Verder wordt, afhankelijk van leeftijd of leeftijdsfase, het systeem geoptimaliseerd naar behoeften voor dat moment, zoals de huisvesting, omgeving en/of management. Het idee hierachter is dat het voorzien in specifieke dierbehoeften ervoor zorgt dat het dier zelf de verstoringen van buiten beter kan opvangen [1], werkend vanuit de 'eigen weerbaarheid'. Hierdoor wordt enerzijds de draaglast verlaagd (omdat zoveel mogelijk voldaan wordt aan specifieke behoeften), maar anderzijds vooral de draagkracht verhoogd (omdat het intrinsieke vermogen zoveel mogelijk wordt gestimuleerd/benut).

> *Draaglast verwijst naar de omstandigheden waarmee het dier te maken heeft.*

> *Draagkracht heeft betrekking op de manier waarop het dier met die omstandigheden kan omgaan, inclusief herstel.*

> *Veerkracht is de mate waarin het dier kan omgaan met variatie in draaglast. In een veerkrachtige veehouderij zijn de draaglast en draagkracht in balans.*

Signalen van de dieren, en niet de autonome normen, zijn leidend bij het bepalen van de balans tussen de draaglast en draagkracht. De normen voor de staluitvoering, klimaat en hokafmetingen staan hierbij dus niet centraal. Indien het systeem voldoende keuzemogelijkheden voor het dier biedt, kan het dier zelf een optimale omgeving zoeken. In een veerkrachtig systeem is de gezondheid van dieren minder afhankelijk van beheersing, maar is er ruimte

voor het dier om zich aan te passen binnen een bepaalde bandbreedte aan fluctuaties, waardoor de impact van de verstoringen minimaal zal zijn. Een veerkrachtiger veehouderij kan leiden tot verdere reductie van de noodzaak tot medicijngebruik (bijvoorbeeld antibioticum), tot reductie van gevoeligheid, verspreiding van infectieziekten (tussen en binnen bedrijven), tot verbeterd welzijn zonder negatieve effecten op het milieu, en op deze wijze bijdragen aan een gezonde samenleving. Mogelijkheden om in dierspecifieke behoeften te voorzien, kunnen via genetica, voeding, klimaat, omgeving gestimuleerd worden. Recent is er ook meer aandacht gekomen voor de rol van het microbiom in relatie tot de veerkracht van dieren.

Microbiom

Het microbiom omvat alle naast elkaar bestaande micro-organismen (onder meer bacteriën, virussen, schimmels). Het microbiom kan in een specifieke niche (microbiota) onderzocht worden, zoals bodem of op een specifieke locatie, interne of externe lichaamsdelen van mens en dier, denk aan huid, darmen, mest, uier, ligbed, et cetera. Vaak komen deze micro-organismen in een gebalanceerde verhouding voor en zijn ze gunstig voor de gastheer, maar ze kunnen ook schadelijk zijn, met name wanneer die balans wordt verstoord. Deze verstoring kan plaatsvinden door ziekte, stress of verandering van voer, omgevingsmaterialen, maar ook door desinfecterende maatregelen. Bij een veerkrachtig dier en een veerkrachtig microbiom zal de verstoring (snel) kunnen worden opgevangen en eventueel worden hersteld.

Darmmicrobiom en gezondheid

De gezondheid en veerkracht van planten, mensen en dieren is deels afhankelijk van de microbiota die ze herbergen. Bij mens en dier wordt het microbiom, in de darm maar ook in en over het gehele lichaam, soms zelfs gezien als een (extra) 'orgaan' met daaraan gekoppelde voordelen voor het bewaken van de gezondheid en het bestrijden van infecties. In het dier leiden darmstoornissen, onafhankelijk van de primaire oorzaak, tot een verstoorde microbiotasamenstelling (dysbiose) met mogelijk secundaire darmschade. Het belang van het microbiom en de implicatie van homeotase of ziekte is onderzocht, waarbij verschil-

llende microbioomcomponenten en metaboliëten (bijvoorbeeld korte vetzuurketens) als immuunmodellerend zijn geïdentificeerd [2]. Veranderingen in de microbioomsamenstelling worden geassocieerd met ziektegevoeligheid en infecties [3], en daarmee waarschijnlijk ook met veerkracht.

Naar het darmmicrobioom is al veel onderzoek gedaan. Het is bekend dat het microbioom de ontwikkeling van de darm beïnvloedt, inclusief het darmepitheel en het immuunsysteem. We weten ook dat de darm zorgt voor een efficiënte opname van voedingsstoffen en een groot immuunorgaan is, dat belangrijk is voor het afweermecanisme en de veerkracht van het dier. Al bij jonge dieren koloniseren de microbiota de darm en tegelijkertijd wordt het immuunsysteem ontwikkeld en getraind om al dan niet te reageren op bepaalde antigenen of veranderingen, bijvoorbeeld van huisvesting. Naast de interactie van het microbioom en immuunontwikkeling is er een interactie tussen het darmmicrobioom en het gedrag, dit is de 'darm-hersenas'. De 'darm-hersenas' is de interactie en communicatie tussen verschillende systemen, zoals het endocriene, immuun- en gedragsstelsel, waarbij emotionele en cognitieve centra worden verbonden met darmfuncties. Daarmee wordt de kolonisatie van de darm met het microbioom, de immuunontwikkeling, en het gedrag aan veerkracht en ziektegevoeligheid gekoppeld. Uit verschillende onderzoeken is gebleken hoe de darmontwikkeling en het microbioom (veelal kortstondig maar soms ook op langere termijn) gemoduleerd kunnen worden door allerlei interventies. Deze veranderingen van het microbioom hebben ook invloed op de veerkracht van het dier.

Voeding

Voeding beïnvloedt de samenstelling van het microbioom, bijvoorbeeld via vroege kolonisatie van de darm [4]. Resultaten uit studies bij diverse diersoorten laten zien dat modulaties in vroege kolonisatie in de darm langdurig effect heeft op de darmontwikkeling en op de samenstelling van het microbioom in het latere leven. Specifieke nutriënten kunnen bijdragen aan verbetering of verslechtering van de ontwikkeling van het immuunsysteem, (ongewenst) gedrag en veerkracht. In het vroege leven beïnvloedt het type voeding de microbioomsamenstelling in de darm en geeft dit langdurige verschuivingen van fysiologische processen. Een veerkrachtig microbioom kan resulteren

in een verbeterde veerkracht van het dier. In een proefopzet waarin biggen op vroege leeftijd fructooligosachariden toegediend kregen, veranderde het microbioom van zowel de dunne als de dikke darm en nam de hoeveelheid bifidobacteriën toe (die in de categorie 'beneficial for health' vallen), terwijl de immuunontwikkeling van de dunne darm en de cryptovillusratio veranderden [5]. Als moederdieren een veranderend microbioom hebben door toediening van antibiotica of voeding, heeft dit effecten op het microbioom van de nakomelingen. Daarmee wordt de invloed van de voeding van moederdieren op het microbioom van de nakomeling gemoduleerd [6]. Dit houdt in dat voeding effecten heeft op het microbioom en op de ontwikkeling van het immuunsysteem, met daarmee mogelijke effecten op de veerkracht van de dieren.

Huisvesting

In een veerkrachtige veehouderij is het de bedoeling dat het immuunsysteem uitgebreid ontwikkeld wordt en dat verstoringen door het dier zelf kunnen worden opgevangen, zonder grote impact op het functioneren van het dier. Het doel is dat het dier adaptief kan reageren op de verstoring. Dieren worden vaak in vrij sobere condities gehuisvest. Het is echter bekend dat een hoog divers microbioom bij mens en dier beschermend kan werken en allergieën kan verminderen, waarmee dus juist minder sobere condities of betere omgevingsblootstelling positief effect kunnen hebben. Zo is bijvoorbeeld ook een goede hokverrijking voor dieren belangrijk voor hun welzijn; dit zorgt ervoor dat zij hun soorteigen gedrag kunnen uitoefenen. Door de 'darm-hersenas' kan een verandering in microbioom gevolgen hebben voor het gedrag. Bij varkens geeft hokverrijking een reductie van de kans op co-infectie van het 'porcine reproductive and respiratory syndrome'-virus en *Actinobacillus pleuropneumoniae* en daardoor minder longpathologie [7].

Met andere woorden, huisvesting heeft effect op het microbioom, de immuunontwikkeling en het gedrag van dieren, en daardoor een positief effect op hun veerkracht.

Directe microbioommodulaties

Het microbioom heeft invloed op de immuniteitsontwikkeling en op het gedrag van mens en dier.

Gedrag en immuniteitsontwikkeling zijn van belang voor een veerkrachtig dier en daarmee is het beïnvloeden van het microbioom een mogelijk handvat om ook veerkracht te beïnvloeden. Doordat voeding en huisvesting het microbioom beïnvloeden, zijn dit mogelijkheden om tot modulatie van veerkracht te komen. Het microbioom kan ook veranderd worden door een microbiële overdracht. In humane studies worden poeptransplantaties uitgevoerd, om bijvoorbeeld *Clostridium difficile*-infecties of obesitas tegen te gaan. Hoewel bekend is dat deze transplantaties, oftewel microbioommodulaties, vaak kortstondig werkzaam zijn, liggen er wel toepassingen voor microbiële overdracht in de veehouderij. Uit onderzoek is gebleken dat een overdracht van het microbioom van volwassen kippen naar net uitgekomen kuikens en een bekende gezonde (commerciële) microbiota of probiotica die wordt gegeven op het moment dat de kuikens direct uit het ei komen, de zogeheten startmicrobiota, effect kan hebben op de ontwikkeling van het immuunsysteem en daarmee mogelijk op de veerkracht van de kippen [8]. Recent is beschreven dat het microbioom het verenigingsgedrag en de emotionele reactie van kwartels en leghennen beïnvloedt. Bij leghennen, waarbij in het vroege leven het microbioom werd getransplanteerd, zijn effecten op het gedrag en immuunsysteem gevonden zowel in het vroege leven als later in het leven. Deze effecten waren afhankelijk van het genotype van het ontvangende dier [9]. Hoewel het microbioom samen met de gastheer een soort geheugenfunctie lijkt te hebben, zijn interventies in het microbioom waarschijnlijk het meest succesvol op jonge leeftijd en op bepaalde momenten wanneer het microbioom al een grote (geplande) verandering ondergaat [10]. Een directe modulatie op het juiste moment in de ontwikkeling van het microbioom kan dus positieve en langdurige effecten hebben op de veerkracht van dieren.

Conclusie

Een veerkrachtige veehouderij is broodnodig om in de toekomst te komen tot een robuuste dierlijke productie zonder dat daarvoor groot menselijk ingrijpen noodzakelijk is (met name overbodig medicijngebruik, ingrepen aan het dier) of dat daarbij bijzonder verhoogde belasting voor de mens optreedt (als omwonende of als consument van dierlijke producten) in een transparante keten. Het veerkrachtconcept

houdt in: Geef dieren de capaciteit zich aan te passen aan veranderingen waar het kan en bescherm hen waar het moet. De mogelijkheden om zich aan te passen worden onder andere beïnvloed door huisvesting, voeding, en vaccinatiestrategieën. Het microbioom kan mogelijk worden gebruikt om te onderzoeken of de veerkracht beïnvloed wordt. In de nabije toekomst zouden zelfs gerichte bijstellingen in het microbioom kunnen bijdragen aan deze veerkracht.

Referenties

1. Ge L, Anten NP, van Dixhoorn ID, et al., Why we need resilience thinking to meet societal challenges in bio-based production systems. *Current Opinion in Environmental Sustainability*. 2016;23:7-17. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2016.11.009>
2. Dang AT, Marsland BJ. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal Immunology*. 2019;12:843-50. <https://doi.org/10.1038/s41385-019-0160-6>
3. Budden KF, Gellatly SL, Wood DL, et al. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis. *Nature Reviews Microbiology*. 2017;15:55-63. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.142>
4. Kogut MH, Arsenault RJ. Gut Health: The New Paradigm in Food Animal Production. *Front Vet Sci*. 2016;3:71-5. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00071>
5. Schokker DJ, Fledderus J, Jansen R, et al. Supplementation of fructooligosaccharides to suckling piglets affects intestinal microbiota colonization and immune development. *Journal of Animal Science*. 2018;96:2139-53. <https://doi.org/10.1093/jas/sky110>
6. de Greeff A, Schokker DJ, Roubos-van den Hil P, et al. The effect of maternal antibiotic use in sows on intestinal development in offspring. *Journal of Animal Science*. 2020;98:1-13. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa181>
7. van Dixhoorn ID, Reimert I, Middelkoop J, et al. Enriched Housing Reduces Disease Susceptibility to Co-Infection with Porcine Reproductive and Respiratory Virus (PRRSV) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (A. pleuropneumoniae) in Young Pigs. *PLOS ONE*. 2016;11:1-24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161832>
8. Meijerink N, Kers JG, Velkers FC, et al. Early Life Inoculation With Adult-Derived Microbiota Accelerates Maturation of Intestinal Microbiota and Enhances NK Cell Activation in Broiler Chickens. *Front Vet Sci*. 2020; 19:584561-78. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.584561>
9. van der Eijk JA, Rodenburg TB, de Vries H, et al. Early-life microbiota transplantation affects behavioural responses, serotonin and immune characteristics in chicken lines divergently selected on feather pecking. *Scientific Reports*. 2020;10:2750-63. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59125-w>
10. Jurburg SD, Brouwer MS, Ceccarelli D, et al. Patterns of community assembly in the developing chicken microbiome reveal rapid primary succession. *MicrobiologyOpen*. 2019;8:e00821. <https://doi.org/10.1002/mbo3.821>

Emerging arboviral diseases

Pauline de Best*, Mariken de Wit*, Kiki Streng*, Martha Dellar, Marion Koopmans

Summary

Emerging pathogens pose an important threat to human and animal health. A large proportion of emerging diseases are transmitted by vectors. Recent examples such as Schmallenberg disease, tick-borne encephalitis, Usutu, and West Nile Fever have shown that Dutch livestock, wildlife, and human populations are at risk of outbreaks of emerging vector-borne diseases. Pathogen spillover to new host populations can be the starting point of emergence, but for this to occur, favourable conditions for host, vector, and virus need to align in space and time. The circumstances enabling disease emergence are constantly shifting due to global and local changes for example in human demographics, land use, international travel, and climate.

Given the clear interplay between human, animal, and environmental health, it is crucial to approach the challenge of emerging vector-borne diseases with a One Health perspective. Within the One Health PACT (Predicting Arbovirus Climate Tipping points) research consortium we follow an integrated approach measuring and modelling how projected changes will impact the risk of emergence of arboviruses in the Netherlands, and translating this understanding into effective, integrated outbreak preparedness and response actions.

Samenvatting

Opkomende pathogenen vormen een belangrijke bedreiging voor gezondheid van mens en dier. Een groot deel van de opkomende ziektes wordt overgedragen door vectoren. Recente voorbeelden van introducties in Nederland zoals tekenencefalitis-, Schmallenberg-, Usutu- en westnijlvirus, tonen aan dat ook in Nederland mens en dier risico lopen op uitbraken met opkomende vectoroverdraagbare pathogenen. Het overspringen van pathogenen naar nieuwe gastheerpopulaties kan het begin zijn van verdere transmissie, maar hiervoor moeten gunstige omstandigheden voor zowel gastheer, virus als vector

samenkomen qua plaats en tijd. Huidige globale en lokale veranderingen in bijvoorbeeld demografie, landgebruik, internationaal reizen en het klimaat zijn hierop van invloed.

Gezien de sterke samenhang tussen gezondheid van mens, dier en milieu, is het van belang om het probleem van opkomende vectoroverdraagbare ziektes te bekijken vanuit een 'One Health'-perspectief. Binnen het One Health PACT (Predicting Arbovirus Climate Tipping points) onderzoeksconsortium gebruiken we deze geïntegreerde benadering om te meten en modelleren wat het effect is van de verwachte veranderingen op het risico van opkomende arbovirussen in Nederland. Deze kennis wordt gebruikt om voorbereiding en respons op een arbovirusuitbraak te verbeteren.

Background

An emerging infectious disease (EID) can be defined as a disease whose incidence increased over the past decades or is predicted to increase in the foreseeable future. This includes diseases caused by known pathogens, which appear in new host populations or in

*Authors contributed equally

Viroscience, ErasmusMC, Viroscience, Rotterdam, the Netherlands, drs. P. de Best, PhD candidate, dr. M. Koopmans, head of department of Viroscience, Erasmus MC;
RIVM, Centre for Infectious Disease Control, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, the Netherlands, drs. P. de Best, PhD candidate; Wageningen University & Research, Quantitative Veterinary Epidemiology, the Netherlands, drs. M. de Wit, PhD candidate, drs. K. Streng, veterinarian, PhD candidate;
Deltares, Utrecht, the Netherlands, dr. M. Dellar, postdoctoral researcher;
Leiden University, Institute of Environmental Sciences, Leiden, the Netherlands, dr. M. Dellar, postdoctoral researcher.

Corresponding author: Pauline de Best
(p.debest@erasmusmc.nl).

new geographical areas, as well as newly identified pathogens, of which a large proportion spill over from an animal reservoir to the human population [1]. Recently (re-)emerged diseases such as Ebola, avian influenza and COVID-19 have illustrated the significant impact they can have on global human health, animal health, and economies.

A large proportion of EIDs are vector-borne diseases [2]. These diseases are caused by either bacterial, parasitic, or viral pathogens [3]. Examples of bacterial and parasitic vector-borne diseases are Lyme disease (caused by *Borrelia*) and leishmaniasis. Viral vector-borne diseases transmitted by arthropod vectors, such as mosquitoes, midges, sand flies, and ticks, are called arboviruses. Throughout the rest of this article, the focus will be on arboviruses. Viruses within the *Togaviridae*, *Flaviviridae*, and *Bunyaviridae* families are the main arboviruses causing human disease today [4]. Recent examples of emerging vector-borne diseases such as tick-borne encephalitis, Schmallenberg disease, Usutu and West Nile Fever have shown that also Dutch livestock, wildlife, and human populations are at risk of outbreaks of emerging arboviruses. Recurring outbreaks of Schmallenberg disease caused major issues in sheep, goat, and cattle industries from 2011 onwards [5]. Emergence of Usutu virus resulted in large bird die-offs, mainly in blackbirds, during an outbreak in 2016 and has been circulating in the Netherlands ever since [6]. In August 2020, West Nile virus (WNV) was detected in wild birds and mosquitoes for the first time in the Netherlands [7]. Later that year, the first seven autochthonous human cases were identified [8]. The One Health PACT (Predicting Arbovirus Climate Tipping points) research consortium, which was initiated in 2020, studies factors that lead to vector-borne disease outbreaks in our changing environment, in order to improve our ability to predict, detect and respond to emerging mosquito-borne arboviruses such as WNV and Usutu virus (see Box 1, see page 124).

The increasing risk of arboviruses

Some of the most notorious arboviruses such as Zika, dengue and chikungunya have become increasingly present across the globe in the past decades [9]. While Zika and chikungunya have caused multiple outbreaks mostly in the Americas, Asia, and the Caribbean, dengue is endemic across the globe [9]. The global spread of dengue has increased dramatically since the

early 1970s [10]. Urbanisation and global travel are seen as the most important causes for this spread [10]. The abovementioned viruses are mainly transmitted by the mosquito species *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. While these vectors were previously absent in Europe, habitat conditions are increasingly suitable for establishment and expansion throughout the continent [11,12]. Furthermore, local vector species such as *Culex pipiens* are competent in transmitting multiple arboviruses [13]. The presence of competent vectors, together with the introduction of exotic viruses, has already led to autochthonous clusters of dengue, outbreaks of chikungunya, and endemic circulation of WNV in Southern Europe, as well as WNV outbreaks in the Netherlands and Germany [8,14-18].

To prevent future emergence and spread of arboviruses, research into arboviruses, vectors, potential host reservoirs, and hotspots for virus introduction is essential. The One Health PACT consortium sets out to study the interplay of factors that may lead to arbovirus emergence in changing environments, and aims to translate findings in these research fields into improved outbreak preparedness and response actions (see Box 1).

Transmission and spillover

Arboviruses can be transmitted between different vector and host species. Depending on the role of the host, arboviruses may circulate in wildlife, domestic animals, human populations, or a combination of these [19]. Host species can play various roles in transmission; they can act as a reservoir for the virus; they can amplify an infection if the virus replicates to high levels; or they can be dead-end hosts, meaning they may experience symptoms but do not contribute to onwards transmission. Pathogens can also move from one host population to another, leading to spillover infections. Examples of these are human infections with Rift Valley Fever virus, and equine and human infections with WNV [20].

Spillover arbovirus infections are the first step towards disease emergence. These infections rarely lead to sustained transmission but sometimes they can be the start of a new outbreak if the new host can efficiently transmit the virus onwards to other individuals. Many interacting risk factors for spillover and emergence have been identified on virus, vector, host, and environmental levels, making prediction of emergence challenging [21]. Spillover only occurs when gaps in

Box 1. One Health PACT

The One Health Predicting Arbovirus Climate Tipping points (One Health PACT) consortium is a research collaboration of experts in a wide variety of fields relevant for infectious disease outbreaks, ranging from ecological and climate modelling to medical entomology, virology and public health.

The current emerging disease surveillance and preparedness follows an ad-hoc, reactive and fragmented approach, which is ineffective and inefficient. Following from the One Health philosophy, collaborating partners in One Health PACT adopt a pro-active, integrated, multisectoral, One Health approach in studying emerging infectious disease outbreaks. We work on measuring and modelling how projected demographic, climatological, ecological, and landscape changes will impact the risk of emergence of arboviruses in the Netherlands, as a basis to improved outbreak preparedness and response actions.

The One Health PACT consortium includes 26 PhD projects and one post-doctoral research project. These research projects are divided into four pillars, each focusing on a specific part of the overall aim.

Pillar A: Ecosystem mapping

This pillar focuses on the collection and generation of (field) data on different animal species, including mosquitoes and humans. Surveillance of these animals and vectors, performed by researchers or via citizen science will provide critical data for Pillar B.

Pillar B: Forecasting and early detection

Pillar B focuses on the development of multiple models that aim to unravel the complex interplay between different factors in the human-animal-environmental ecosystem. With these models, future changes in 1) climate, 2) water management, 3) farming practices and 4) importation risk of vectors and viruses, will be analysed.

Pillar C: Impact and severity assessment

This pillar will assess the impact and severity of several different arboviruses by using in vitro and in vivo studies in mosquitoes, hosts and other animal models. Vector competence, host range, reservoir potential and transmission dynamics will be studied within this pillar.

Pillar D: Interventions

Using the outcomes of pillars, A, B and C, early warning systems and intervention strategies will be developed. These consist of fieldable diagnostics, intervention strategies focused on vector control and vaccine development. Additionally, protocols and guidelines will be developed to serve as tools for arbovirus preparedness and response at the governmental level.

Partners

Erasmus MC – Viroscience
Utrecht University – Faculty of Veterinary Medicine
University Medical Center Utrecht
Wageningen University & Research
Leiden University
Leiden University Medical Center
Radboud University Medical Center
Netherlands Institute of Ecology (NIOO-KNAW)
Avans Hogescholen
Centre for Infectious Disease Control (RIVM)
Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut (KNMI)
Red Cross Blood bank Foundation, Curacao
Sanquin – Department of Blood-borne infections
Technasium Foundation
Netherlands Centre for Monitoring of Vectors (CMV)
Deltares
SOVON Dutch Centre for Field Ecology
Municipal Health Service Rotterdam
CEAB-CSIC: Centre for Advanced Studies of Blanes (CEAB) within the Superior Council of Scientific Investigations (CSIC)
One Health PACT with project number 109986 is (partly) financed by the Dutch Research Council (NWO).
One Health PACT is part of the research programme of the Netherlands Centre for One Health (NCOH).

Follow our project

Website: www.onehealthpact.org
Twitter: [@OneHealthPact](https://twitter.com/OneHealthPact) (<https://twitter.com/OneHealthPact?s=20>)
Instagram: [@onehealthpact](https://www.instagram.com/onehealthpact/) (<https://www.instagram.com/onehealthpact/>) <https://www.linkedin.com/showcase/onehealthpact/>

all barriers align in space and time (figure 1). Movement, density, and behaviour of vector and hosts determine the probability of contact and exposure [22]. This highlights the importance of a thorough understanding of host and vector ecology, including interaction and competition within and between species. Examples of bottlenecks that prevent spillover from occurring include a lack of temporal overlap in the presence of vectors and hosts, and a limited biting preference of vectors.

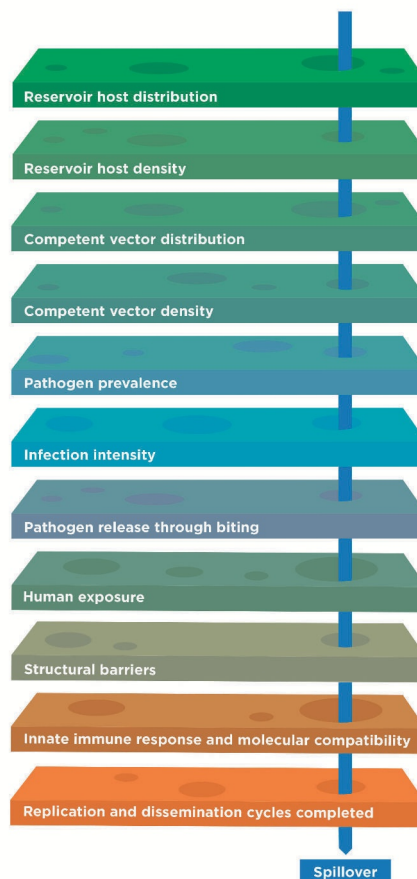
Pathogen characteristics and within-host processes affect the probability that the infection will be transmitted to and replicate in the new host [21,22]. Barriers to infection and dissemination include physical barriers such as skin, absence of receptors that enable pathogen cell entry, and immune responses. These barriers are not only relevant in host species, but physical barriers and immune responses in mosquitoes also play a role. The strength of these barriers may vary between individuals for example due to immunodeficiency or genetic variation [22]. Also interventions, such as vaccination, can affect a host's ability to transmit the pathogen.

The presence and strength of many of these barriers are shaped by the environment in which they occur. However, this environment is constantly changing, making spillover and emergence events difficult to predict. To understand how outbreak risk changes over time, we have to know how the environment has changed in the past and how it might evolve in the future.

A changing environment

Climate change brings warmer temperatures, increasing mosquito metabolic rates and causing them to develop faster [23]. This, combined with a shorter generation interval, faster bloodmeal digestion and a longer mosquito season can lead to higher abundances [24]. Higher temperatures also lead to the establishment of new mosquito species (and consequently new viruses) not previously found in the Netherlands, as the climate becomes more favourable to them [25]. In addition, the infection and transmission rates for some (strains of) viruses increase with temperature [26]; a shorter incubation period means that more mosquitoes will survive long enough to become infectious. Climate change also brings changes in rainfall patterns, which can affect the avail-

Figure 1. Alignment of barriers for arbovirus spillover event (adapted from Plowright, et al. 2017 [22]).



ability of breeding sites [24].

Urban and natural areas are growing while rural areas are shrinking [27]. This affects all sorts of wildlife, potentially leading them to new habitats and increasing host-vector interactions. In addition, urban habitats contain both a wide range of breeding habitats and plenty of mammal/human hosts, making them particularly favourable to certain *Culex* spp. mosquitoes (known carriers of WNV, Usutu virus and Sindbis virus) [28].

Changes in other areas, such as agricultural practices, water management, and tourism can all affect vector and host populations. This may be through habitat creation or destruction, changing water quality, transfer of species or viruses to new areas, or a whole range of other factors.

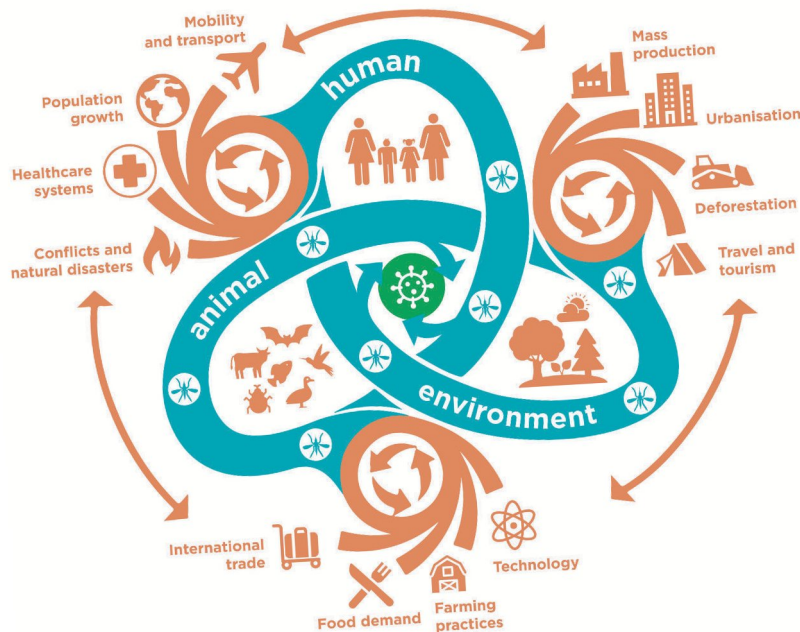


Figure 2. Multiple global changes in the human-animal-environment ecosystem, creating favourable conditions for arbovirus spillover events and consequently emergence of arboviruses (adapted from Sikkema and Koopmans, 2021 [29]).

Many drivers of spillover and EID outbreaks have been identified and described in literature (see figure 2). These can be summarised as changes in (1) human demographics, including urbanisation and a growing demand for food production, (2) land use, including farming practices (3) international travel and trade, (4) climate and weather [29]. Understanding these changes is crucial for predicting the future risk of arboviral outbreaks and for planning how to deal with them.

Integrated One Health approach

With these drivers interacting at multiple levels across human, animal and ecosystem health, researchers and policy makers working on EID should embrace an interdisciplinary approach. This One Health approach is essential in preventing, detecting, and controlling spread at the human-animal interface. This need has been recognized by WHO chief Tedros Adhanom Ghebreyesus: “We can only prevent future pandemics with an integrated One Health approach to public

animal health and the environment we share” [30]. In the Netherlands, the One Health PACT consortium is applying this principle in their research into arboviruses, to contribute to a proactive approach to emerging arboviral diseases (see Box 1)

Financial statement

One Health PACT with project number 109986 is (partly) financed by the Dutch Research Council (NWO). One Health PACT is part of the research programme of the Netherlands Centre for One Health (NCOH).

Acknowledgements

We would like to thank Rody Blom, Sam Boerlijst, Quirine ten Bosch and Barry Rockx (members of One Health PACT) for their input, suggestions, and critical reading of the manuscript. We would also like to thank Maaïke van Zuilen for her adaptations to the figures used in this manuscript.

References

1. Jones KE, Patel NG, Levy MA, et al. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. 2008;451:990-93. doi:10.1038/nature06536
2. Morens DM, Fauci AS. Emerging Pandemic Diseases: How We Got to COVID-19. *Cell*. 2020;183:1077-92. doi:https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.021
3. Huntington MK, Allison J, Nair D. Emerging Vector-Borne Diseases. *Am Fam Physician*. 2016;94:551-7.
4. Young PR. Arboviruses: A Family on the Move. In: Hilgenfeld R, Vasudevan SG, eds. *Dengue and Zika: Control and Antiviral Treatment Strategies*. Singapore: Springer Singapore; 2018:1-10. doi:10.1007/978-981-10-8727-1_1
5. Afonso A, Abrahantes JC, Conraths F, et al. The Schmallenberg virus epidemic in Europe-2011-2013. *Prev Vet Med*. 2014;116:391-403. doi:10.1016/j.prevetmed.2014.02.012
6. Rijks J, Kik M, Slaterus R, et al. Widespread Usutu virus outbreak in birds in the Netherlands, 2016. *Eurosurveillance*. 2016;21.
7. Sikkema RS, Schrama M, Berg T van den, et al. Detection of West Nile virus in a common whitethroat (*Curruca communis*) and *Culex* mosquitoes in the. *Eurosurveillance*. 2020;Rapid comm:1-6.
8. Vlaskamp DRM, Thijsen SFT, Reimerink J, et al. First autochthonous human west nile virus infections in the Netherlands, July to August 2020. *Eurosurveillance*. 2020;25:1-4. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.46.2001904
9. Musso D, Rodriguez-Morales AJ, Levi JE, Cao-Lorme VM, Gubler DJ. Unexpected outbreaks of arbovirus infections: lessons learned from the Pacific and tropical America. *Lancet Infect Dis*. 2018;18:e355-e361. doi:10.1016/S1473-3099(18)30269-X
10. Gubler DJ. Dengue, Urbanization and Globalization: The Unholy Trinity of the 21(st) Century. *Trop Med Health*. 2011;39(4 Suppl):3-11. doi:10.2149/tmh.2011-S05
11. Semenza JC, Suk JE. Vector-borne diseases and climate change: A European perspective. *FEMS Microbiol Lett*. 2018;365:1-9. doi:10.1093/femsle/fnx244
12. Kraemer MUG, Reiner RCJ, Brady OJ, et al. Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Nat Microbiol*. 2019;4:854-63. doi:10.1038/s41564-019-0376-y
13. Martinet JP, Ferté H, Failloux AB, Schaffner F, Depaquit J. Mosquitoes of north-western Europe as potential vectors of arboviruses: A review. *Viruses*. 2019;11:1-18. doi:10.3390/v11111059
14. Giron S, Franke F, Decoppet A, et al. Vector-borne transmission of Zika virus in Europe, southern France, August 2019. *Eurosurveillance*. 2019;24:1-4. doi:10.2807/1560-7917.ES.2019.24.45.1900655
15. Aranda C, Martínez MJ, Montalvo T, et al. Arbovirus surveillance: first dengue virus detection in local *aedes albopictus* mosquitoes in Europe, Catalonia, Spain, 2015. *Eurosurveillance*. 2018;23(47). doi:10.2807/1560-7917.ES.2018.23.47.1700837
16. Riccardo F, Venturi G, Di Luca M, Del Manso M, Severini F, Andrianou X. Secondary Autochthonous Outbreak of Chikungunya, Southern Italy, 2017. *Emerg Infect Dis*. 2019;25:2093-5. doi:https://doi.org/10.3201/eid2511.180949
17. Bakonyi T, Haussig JM. West nile virus keeps on moving up in Europe. *Eurosurveillance*. 2020;25:1-4. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.46.2001938
18. Monge S, García-Ortúzar V, López Hernández B, et al. Characterization of the first autochthonous dengue outbreak in Spain (August-September 2018). *Acta Trop*. 2020;205:105402. doi:10.1016/j.actatropica.2020.105402
19. Weaver SC, Barrett ADT. Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2:789-801. doi:10.1038/nrmicro1006
20. Métras R, Edmunds WJ, Youssouf C, et al. Estimation of Rift Valley fever virus spillover to humans during the Mayotte 2018–2019 epidemic. *Proc Natl Acad Sci*. 2020;117:24567 LP - 24574. doi:10.1073/pnas.2004468117
21. Woolhouse MEJ, Haydon DT, Antia R. Emerging pathogens: The epidemiology and evolution of species jumps. *Trends Ecol Evol*. 2005;20:238-44. doi:10.1016/j.tree.2005.02.009
22. Plowright RK, Parrish CR, McCallum H, et al. Pathways to zoonotic spillover. *Nat Rev Microbiol*. 2017;15:502-10. doi:10.1038/nrmicro.2017.45
23. Couret J, Benedict MQ. A meta-analysis of the factors influencing development rate variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *BMC Ecol*. 2014;14:3. doi:10.1186/1472-6785-14-3
24. Medlock JM, Leach SA. Effect of climate change on vector-borne disease risk in the UK. *Lancet Infect Dis*. 2015;15:721-30. doi:10.1016/S1473-3099(15)70091-5
25. Elbers ARW, Koenraad CJM, Meiswinkel R. Mosquitoes and Culicoides biting midges: Vector range and the influence of climate change. *OIE Rev Sci Tech*. 2015;34:123-37. doi:10.20506/rst.34.1.2349
26. Esser HJ, Mögling R, Cleton NB, et al. Risk factors associated with sustained circulation of six zoonotic arboviruses: a systematic review for selection of surveillance sites in non-endemic areas. *Parasit Vectors*. 2019;12:1-17. doi:10.1186/s13071-019-3515-7
27. Wolters HA, van der Born GJ, Dammers E, Reinhard S. Deltascenario's Voor de 21e Eeuw, Actualisering 2017; 2018.
28. Norris DE. Mosquito-borne Diseases as a Consequence of Land Use Change. *Ecohealth*. 2004;1:19-24. doi:10.1007/s10393-004-0008-7
29. Sikkema RS, Koopmans MPG. Preparing for Emerging Zoonotic Viruses. *Encycl Virol*. 2021;(January):256-66. doi:10.1016/b978-0-12-814515-9.00150-8
30. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at 148th session of the Executive Board. <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-148th-session-of-the-executive-board>. Published 2021.

Tekenbeetziekten

Ingrid Dijkgraaf

Samenvatting

Als bloedzuigende parasieten zorgen teken voor overlast, omdat ze verschillende infectieziekten kunnen overbrengen. De bekendste infectieziekte die wordt overgedragen door teken, is de ziekte van Lyme, ook wel Lyme borreliose genoemd. Naast *Borrelia burgdorferi* sensu lato, de verwekker van borreliose, kunnen teken ook andere bacteriën, parasieten en virussen overdragen die leiden tot ziekte bij zowel mens als dier, met sociaaleconomische schade als gevolg. In dit artikel worden teken in het algemeen besproken, de tekensorten die vooral in Nederland voorkomen en de infectieziekten die ze kunnen overdragen.

Summary

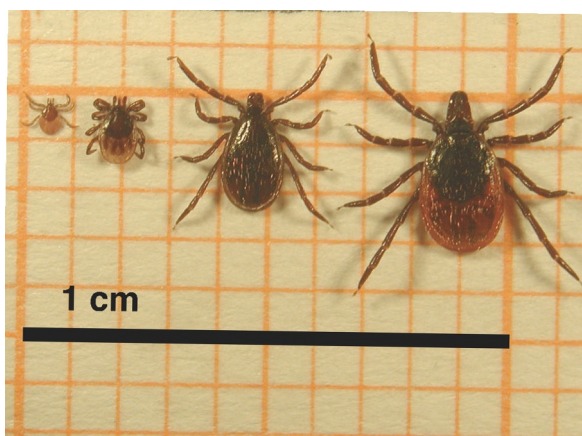
Among all bloodsucking parasites, ticks are a burden as they can transmit various infectious diseases. The most well-known infectious disease transmitted by ticks is Lyme disease, also known as Lyme borreliosis. In addition to *Borrelia burgdorferi* sensu lato, the causative agent of borreliosis, ticks can also transmit other bacteria, parasites and viruses that lead to disease in both humans and animals, resulting in socio-economic damage. This article discusses ticks in general and the tick species that occur mainly in the Netherlands and the infectious diseases they can transmit.

Teken

Teken komen verspreid over de hele wereld voor, in enorm droge tot heel vochtige en in relatief koude tot heel warme gebieden. Er zijn meer dan 900 soorten teken beschreven, die ingedeeld kunnen worden in drie groepen: de harde of schildteken (Ixodidae), de zachte of lederteken (*Argasidae*) en de *Nuttalliellidae*-familie, waarvan tot nu toe één soort beschreven is die vanwege zijn afwijkende kenmerken apart ingedeeld is, de *Nuttalliella namaqua* [1]. Van alle tekensorten zijn er ongeveer 100 die pathogenen kunnen overdragen.

In Nederland komen ongeveer 15 tekensorten voor, waarvan drie tekensorten verantwoordelijk zijn voor het overdragen van ziekten: *Ixodes ricinus* (schapenteek), *Dermacentor reticulatus* (vlekkenteek) en *Hyalomma marginatum* (Middellandse Zeeteek), alle afkomstig uit de groep van de *Ixodes*-teken. Van de ledertekensorten komen slechts twee soorten van de familie *Argasidae* in Nederland voor, te weten *Argas reflexus* (duiventek) en *Argas vespertiloni* (vleermuizenteek).

Teken hebben verschillende levensstadia: ei, larve, nimf en volwassen teek (man/vrouw, figuur 1).



Figuur 1. Verschillende levensstadia van een *Ixodes ricinus* teek. Van links naar rechts drie van de vier levensstadia: larve, nimf, volwassen mannetje en volwassen vrouwtje. Eitjes zijn niet afgebeeld. (© Fedor Gassner).

Dr. ir. I. Dijkgraaf, Maastricht Universiteit, Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), afdeling Biochemie, universitair hoofddocent. E-mail: i.dijkgraaf@maastrichtuniversity.nl

Voor de ontwikkeling naar het volgende levensstadium heeft een teek een bloedmaal nodig van een gastheer, mens of dier. Afhankelijk van de teeksoort worden daarvoor één of meer gastheren gebruikt, waarbij de gastheer niet van dezelfde soort hoeft te zijn. Enkele teeksoorten verblijven hun hele leven op of in de buurt van dezelfde gastheer en worden eengastherig genoemd. Daarnaast bestaan er twee- en driegastherige teken die parasiteren op, zoals de naam al aangeeft, respectievelijk twee en drie verschillende prooidieren. Tussen de verschillende bloedmaaltijden gaat de teek zeer zuinig met zijn energie om en kan daarbij tot wel enkele jaren zonder voeding overleven. Wanneer een teek toe is aan de volgende bloedmaaltijd, wacht hij op laaghangende struiken en grassprietten tot zijn gastheer zoals een vogel, knaagdier, reptiel of egel passeert. De mens is daarbij vooral een toevallige gastheer.

Teken kunnen verschillende pathogenen zoals bacteriën, virussen en zelfs parasieten overbrengen en worden daarom ook wel vectoren genoemd. De infectieziekten die ze daarmee kunnen veroorzaken hebben een behoorlijke impact op niet alleen de gezondheid van mensen, maar ook van dieren. Teken kunnen daarmee op sociaaleconomisch vlak aanzienlijke schade aanrichten, die met name veeteeltafhankelijke economieën in ontwikkelingslanden raakt. Daarmee zijn teken belangrijke, zo niet de belangrijkste, parasieten die verantwoordelijk zijn voor vectoroverdraagbare ziekten en staan ze, ondanks dat ze minder berucht zijn, gelijk aan steekmuggen die ziekten zoals malaria, knokkelkoorts (dengue-hemorragische koorts), gele koorts, westnijlkoorts en chikungunya kunnen overbrengen.

Borreliose

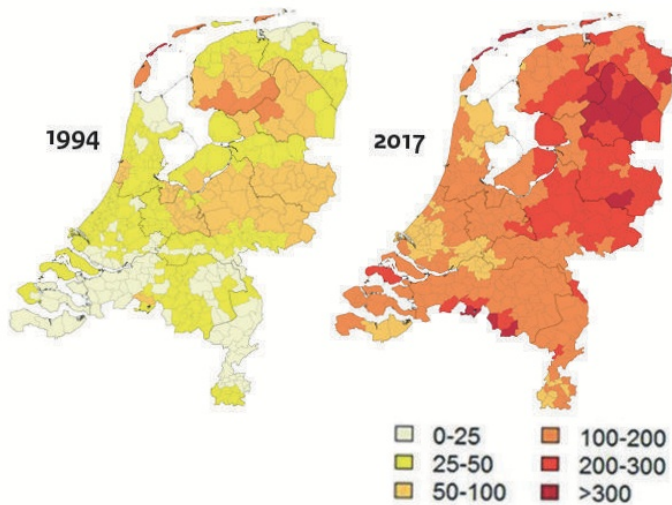
In Nederland is borreliose de bekendste en meest voorkomende tekenbeetziekte die veroorzaakt wordt door de *Borrelia*-bacterie, een spirocheet. Meer dan 1 miljoen mensen worden jaarlijks door een teek gebeten en ongeveer 27.000 mensen van hen krijgen borreliose, ook wel de ziekte van Lyme genoemd (bron RIVM). Dit houdt in dat slechts 1 op de 50 mensen met een tekenbeet ziek wordt, terwijl gemiddeld 1 op 5 teken besmet is met de *Borrelia*-bacterie, waarbij het percentage besmette teken regionaal sterk kan verschillen. Het is echter niet juist om over de *Borrelia*-bacterie te spreken, aangezien er meer dan 20 verschillende soorten *Borrelia*-bacteriën bekend zijn.

In 2014 is er discussie ontstaan over de indeling van het geslacht *Borrelia* en de bijbehorende taxonomie [2-5]. Aangezien deze discussie recent nog speelde en de nieuwe voorgestelde taxonomie (nog) niet veel gebruikt wordt in de literatuur, is er bij dit manuscript voor gekozen om de oude taxonomie te gebruiken.

In Europa komen vooral *Borrelia afzelii* en *Borrelia garinii* (behorende tot *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.)) voor, terwijl in Noord-Amerika *Borrelia burgdorferi* (*Borrelia burgdorferi* sensu stricto (s.s.)) overwegend aanwezig is. De verschillende spirocheetsoorten veroorzaken ook verschillende symptomen van Lymeziekte. In tegenstelling tot de Europese *Borrelia*-soorten veroorzaakt *Borrelia burgdorferi* vaak artritis. *Borrelia afzelii* veroorzaakt vooral huidinfecties waaronder acrodermatitis chronica atrophicans (ACA), een chronische ontsteking en atrofie van de huid. De *Borrelia garinii*-bacterie infecteert vooral het zenuwstelsel, wat kan leiden tot verschillende neurologische klachten zoals hoofdpijn, verlamming, zenuwpijn en uitvalsverschijnselen. Dit wordt ook wel neuroborreliose genoemd.

Het ziekteverloop en de bijbehorende symptomen kunnen per patiënt sterk verschillen. Daarnaast is het stadium van de infectie (vroeg, vroege gedissemineerde en late) van invloed op de klinische symptomen. Dit alles maakt dat de diagnose vaak lastig is. Een vroege infectie wordt vaak gekenmerkt door een erythema migrans (EM), een huiduitslag die één tot drie weken na infectie kan optreden, maar dit is zeker niet altijd het geval. Op de websites van NHG-Richtlijnen (<https://richtlijnen.nhg.org/>), het Nederlands Lymeziekte-expertisecentrum (<https://www.expertisecentrumlyme.nl/>) en het RIVM (<https://www.rivm.nl/>) staan de richtlijnen voor diagnostisch onderzoek (serologie en PCR) en behandeling van Lymeziekte (antibiotica).

Het aantal tekenbeten en diagnoses van Lymeziekte in Nederland is sinds 1994 sterk toegenomen (figuur 2, bron RIVM, zie pagina 130). De precieze oorzaak is niet bekend, maar klimaatsverandering lijkt een rol te spelen bij de toename van het aantal teken en zorgt er tevens voor dat teken langer actief zijn. Daarnaast zijn we alerter geworden op tekenbeten en Lymeziekte en recreëren we vaker in de natuur. Wat de precieze bijdrage is van elk van deze en andere factoren aan de toename van tekenbeten is niet makkelijk te achterhalen en behoeft meer onderzoek.



Figuur 2. Aantal diagnoses van erythema migrans per 100.000 inwoners in Nederland. (Bron: RIVM)

Borrelia miyamotoi-ziekte

Ondanks dat de *Borrelia miyamotoi*-bacterie tot dezelfde familie van spirocheten behoort als de *Borrelia burgdorferi* s.l.-soorten, veroorzaakt deze spirocheet geen Lymeziekte. Het is nu net iets langer dan een decennium geleden dat bekend werd dat deze bacterie ook ziekte kan veroorzaken [6], de zogeheten *Borrelia miyamotoi*-ziekte (BMD). De klinische symptomen van deze infectieziekte omvatten griepachtige verschijnselen met soms terugkerende koortsepisoden ('relapsing fever'). Daarbij kunnen ook trombocytopenie en leverenzymstoornissen optreden [7]. In Nederland komt *Borrelia miyamotoi* voor in ongeveer 4 procent van de *I. ricinus*-tekenen.

Sinds 2013 zijn er twee patiënten met *B. miyamotoi*-ziekte in Nederland beschreven, waarvan één immuungecompromiteerde patiënt die chronische meningo-encefalitis ontwikkelde [8, 9].

Of EM een (vroeg) *B. miyamotoi*-infectie kenmerkt of op een co-infectie met *B. burgdorferi* s.l. wijst, is nog niet helemaal duidelijk. Diagnostiek van een *B. miyamotoi*-infectie berust op dezelfde technieken als voor *B. burgdorferi* s.l. en vindt plaats in het Amsterdam UMC, locatie AMC. *B. miyamotoi*-ziekte is met dezelfde antibiotica te behandelen als Lymeziekte.

Anaplasmosse

Humane granulocyttaire anaplasmosse (HGA; kortweg anaplasmosse) wordt veroorzaakt door de

Anaplasma phagocytophilum-bacterie, die leukocyten infecteert. Het ziektebeeld van anaplasmosse bestaat vooral uit griepachtige verschijnselen met soms koorts, gewrichts- en spierpijn en vermoeidheid die bij de meeste patiënten na enkele dagen verdwijnen. Vooral bij immuungecompromiteerde patiënten kan het ziektebeeld ernstiger verlopen (onder meer verstoorde nier- en leverfunctie en leuko- en trombocytopenie). Van de *I. ricinus*-tekenen in Nederland draagt 1 procent *A. phagocytophilum* met zich mee [10]. In Nederland zijn tot nog toe slechts twee patiënten met anaplasmosse beschreven [11,12]. Het RIVM en andere Nederlandse gespecialiseerde laboratoria voeren diagnostisch onderzoek uit voor *A. phagocytophilum*.

Babesiose

Drie soorten van de eencellige parasiet (protozoa) *Babesia* kunnen erythrocyten infecteren en daarmee babesiose bij mensen veroorzaken, te weten: *B. divergens*, *B. venatorum* en *B. microti*. In de meeste gevallen gaat het om een infectie met *B. divergens* [13]. Het ziektebeeld van patiënten met babesiose bestaat uit koorts, anemie en hepatomegalie en splenomegalie. Bij patiënten met een splenectomie verloopt het ziektebeeld veel acuter en ernstiger (onder andere hemoglobulinurie, nierfalen, icterus).

Van de *I. ricinus*-tekenen in Nederland is 3 tot 4 procent besmet met een *babesia*-parasiet, maar tot nog toe zijn

er geen patiënten bekend die in Nederland babesiose hebben opgelopen. In Europa zijn echter tientallen gevallen van deze infectie beschreven [10].

Tekenencefalitis

Tekenencefalitis is een tekenziekte die pas sinds 2016 in Nederland voorkomt. Het is een hersen-(vlies)ontsteking die veroorzaakt wordt door het tekenencefalitisvirus, ook wel tick-borne encephalitis virus (TBEV) genaamd. Dit is een RNA-virus dat behoort tot de familie *Flaviviridae* (positief enkelstrengse RNA-virussen) waarvan vier verschillende subtypen beschreven zijn: het Europese, Siberische, Verre Oosten en Himalaya subtype [14,15]. Het Europese subtype wordt overgedragen door *I. ricinus*- en *I. hexagonus*-tekenen. Tekenencefalitis is endemisch in Centraal en Oost-Europa en Zuid-Scandinavië, maar komt in Nederland weinig voor omdat slechts 1 op de 1500 *I. ricinus*-tekenen met TBEV besmet is. Dit in tegenstelling tot de hiervoor genoemde risicogebieden waar ongeveer 2 procent van alle teken TBEV-besmet is. Sinds 2016 worden er in Nederland per jaar ongeveer twee patiënten met tekenencefalitis geregistreerd en is het TBEV tot nog toe alleen aangetroffen in *I. ricinus*-tekenen op de Sallandse en Utrechtse Heuvelrug [10,16].

Een besmetting met TBEV kenmerkt zich veelal door griepachtige verschijnselen (milde koorts, spier- en gewrichtspijn, vermoeidheid) en daarna volgt meestal spontaan herstel. Bij een klein aantal patiënten kunnen, na een klachtenvrije periode van enkele dagen tot een week, de hersenvliezen, het hersen- en ruggenmerg ontstoken raken met neurologische symptomen zoals hoofdpijn, geheugenverlies, verlammingen, misselijkheid en duizeligheid. Er bestaat geen medicatie tegen tekenencefalitis. Er is wel een vaccin beschikbaar dat na volledige vaccinatie 95 procent bescherming geeft.

Krim-Congo-hemorragische koorts

Het Krim-Congovirus (CCHFV) behoort tot de bunyavirussen (negatief enkelstrengs RNA-virus, bestaande uit drie segmenten), en kan naast tekenbeten ook overgedragen worden door blootstelling aan lichaamsvloeistoffen van geïnfecteerde mensen en dieren. De belangrijkste vector van het CCHFV is de *Hyalomma marginatum*-teek,

waarvan er sinds 2018 in Nederland 17 zijn aangetroffen. Geen van de onderzochte *Hyalomma*-tekenen bleek besmet met het CCHFV [17]. In Europa komt *H. marginatum* voor in landen rond de Middellandse Zee (Italië en Spanje) en Zuidoost Europa (onder meer Roemenië, Albanië, Griekenland). Deze teek kwam tot kort geleden niet voor in Noordwest Europa, vanwege het koude klimaat. Het verspreidingsgebied van deze teek is inmiddels echter opgeschoven naar Noord-Frankrijk. Modellen voorspellen dat door de opwarming van de aarde het leefgebied van *H. marginatum* zich verder naar het noorden zal uitbreiden en dat (geïnfecteerde) tekenen van deze soort zich ook gaan vestigen in Nederland [18].

Krim-Congo-hemorragische koorts is endemisch in grote delen van Afrika, Azië, Midden-Oosten en Zuidoost-Europa. De ziekte manifesteert zich in de prehemorragische fase met koorts, myalgie, misselijkheid en ernstige hoofdpijn [19]. In een later stadium variëren de symptomen van petechiën, bloeding van het tandvlees, de neus, de inwendige organen en het maag-darmstelsel [19,20]. Van de gehospitaliseerde CCHFV-geïnfecteerde patiënten overlijdt 9 tot 50 procent, afhankelijk van het tijdstip van de benodigde interventie [20,21].

Het Erasmus MC Rotterdam, afdeling Virologie, voert diagnostisch onderzoek uit voor CCFHV (PCR, serologie). Het virus is ingeschaald in de hoogste veiligheidsklasse, BSL4, net zoals het marburg- en ebola-virus. Er is nog geen vaccin tegen CCHFV. Behandeling van patiënten bestaat uit het toedienen van antivirale middelen en symptoom-bestrijding.

Alfa-galsyndroom

Het alfa-galsyndroom (AGS) is een IgE-gemedieerde overgevoelighedsreactie op galactose- α -1,3-galactose (α -Gal). Het ziektebeeld manifesteert zich wisselend: van episodische of chronische urticaria tot een levensbedreigende anafylactische reactie. Overgevoeligheid voor α -Gal wordt veroorzaakt door speeksel-eiwitten van tekenen die worden overgedragen tijdens een tekenbeet. Deze tekeneiwitten zijn geglycosyleerd met onder andere α -Gal en mensen kunnen een sterke IgE-gemedieerde immuunrespons ontwikkelen tegen dit lichaamsvreemde oligosaccharide [22]. Sinds 2007 is bekend dat het consu-

meren van rood vlees door het aanwezige α -Gal in dit vlees kan leiden tot een allergische reactie [23,24]. Daarom wordt AGS ook wel roodvleesallergie genoemd. α -Gal epitopen zijn echter ook aanwezig op sommige medicijnen zoals cetuximab, in vaccins en infusievloeistoffen, en ze kunnen allergische reacties veroorzaken bij individuen met anti- α -Gal IgE-antilichamen, met soms fatale gevolgen [25-27].

Specifieke medicijnen tegen de allergie zijn er niet, alleen medicijnen om de symptomen te behandelen. De allergische reactie kan na verloop van tijd afnemen aan sterkte en zelfs geheel verdwijnen, maar kan na een nieuwe tekenbeet weer terugkomen of verergeren. Het vermijden van tekenbeten en het eten van rood vlees is de enige remedie.

Tekenbeetziekten bij dieren

Dat teken ook vervelende ziekten bij dieren kunnen overbrengen is minder bekend, maar daar komt gelukkig verandering in. Teken richten wereldwijd veel economische schade aan aan de veestapel, maar dit

valt buiten de strekking van dit manuscript.

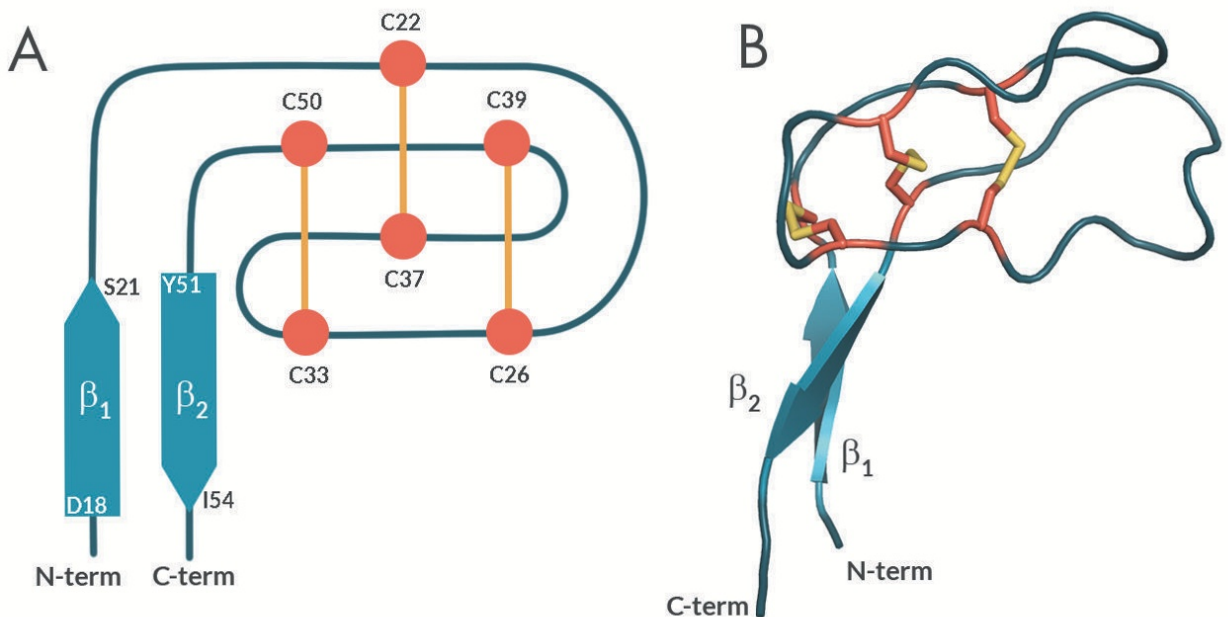
Babesiose, ook wel bloedplassen genaamd, is de meest voorkomende tekenziekte bij runderen en wordt in Nederland vooral veroorzaakt door de *B. divergens*-parasiet. Geïnfecteerde runderen krijgen ernstige anemie, zijn koortsig en lusteloos. In een later stadium kan de urine zelfs rood kleuren door de vrijgekomen kleurstof uit de erythrocyten. De melkproductie kan afnemen en er kan zelfs acute sterfte optreden.

Ook anaplasmose komt voor bij runderen in Nederland, maar wel minder vaak. Runderen die geïnfecteerd zijn met anaplasmose zijn koortsig, hebben stijve en dikke kogels en spronggewrichten en de melkproductie daalt meteen. Daarnaast kan verwerpen optreden.

Bij schapen zorgt een infectie met *A. phagocytophilum* voor weidekoorts (tick-borne fever; TBF), wat zich kan uiten in onder andere longontsteking, gewichtsontsteking, neurologische aandoeningen, abortus, blindheid en plotselinge sterfte.

In andere werelddelen, zoals Afrika, Oceanië, Zuid-Amerika en Azië komen nog veel meer verschillende

Figuur 3. Schematische weergave van de secundaire structuur van het tekeneiwit evasine-3 (A). In oranje zijn de disulfide bruggen aangegeven en in blauw de beta-sheets. Driedimensionale structuur in cartoon weergave van het tekeneiwit evasine-3 (B). Beide gemaakt door Dr. Stepan S. Denisov, Universiteit Maastricht.



tekenbeetziekten bij dieren voor: Afrikaanse varkenspest (ook endemisch in Europa), East Coast fever, heartwater disease en Nairobi sheep disease. Dieren kunnen erg ziek worden van deze teekbeetziekten en daaraan zelfs sterven, maar ze kunnen ook geen klinische symptomen hebben zoals bij bijvoorbeeld Krim-Congo-hemorragische koorts. Dieren dienen in dat geval vooral als reservoir van waaruit de parasieten zich naar de mens (of andere diersoorten) kunnen verspreiden.

De beste maatregelen om tekenbeetziekten bij dieren en mensen te voorkomen is preventie van tekenbeten. Tekenwerende middelen werken vaak niet afdoende. Bovendien kunnen teken resistent worden tegen deze middelen. Vaccins tegen specifieke tekenbeetziekten, zoals tekenencefalitis, of zelfs een anti-tekenvaccin zou hier uitkomst kunnen bieden in zowel humane als diergeneeskunde. Onderzoek naar tekenbeetziekten en naar mogelijke profylaxe hiervan is daarom essentieel.

Onderzoek bij teken

Het is niet allemaal slecht wat teken brengen. Teken hebben zich gedurende 100 miljoen jaar [28] kunnen aanpassen, om optimaal het gastheerafweersysteem om de tuin te kunnen leiden en zo ongemerkt dagen op de gastheer te kunnen doorbrengen. Door de structuren (figuur 3) en effecten van tekeneiwitten op de primaire [29] en secundaire hemostase [30] en immuunsuppressie (figuur 4) [31,32] te bestuderen, kunnen wij niet alleen veel leren over de processen waarmee de teek zich bedient, maar kunnen we tekeneiwitten ook inzetten als beeldvormings- en geneesmiddelen bij mensen voor het opsporen en behandelen van ziekten [33]. Door de structuren (figuur 3) en effecten van tekeneiwitten op de primaire [29] en secundaire hemostase [30] en immuunsuppressie (figuur 4) [31,32] te bestuderen, kunnen wij niet alleen veel leren over de processen waarmee de teek zich bedient, maar kunnen we tekeneiwitten ook inzetten als beeldvormings- en geneesmiddelen bij mensen voor het opsporen en behandelen van ziekten [33].

Conclusie

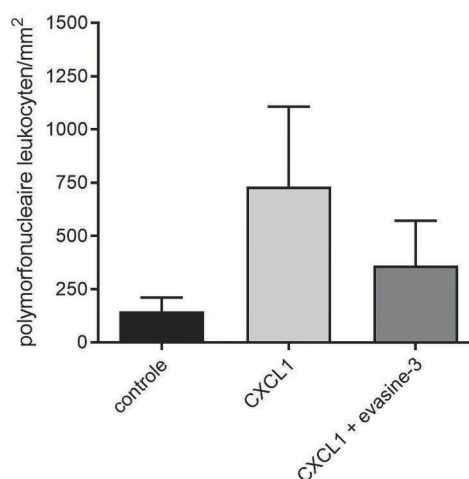
Teken kunnen naast bacteriën die Lymeziekte veroorzaken, ook verschillende andere bacteriën,

parasieten en virussen op mensen overdragen. Daarnaast veroorzaken ze verschillende infecties bij gezelschaps- en productiedieren, wat leidt tot sociaaleconomische schade.

In Nederland zijn de expertise en de benodigde diagnostiek aanwezig voor de in Nederland voorkomende pathogenen die door teken worden overgedragen. Zie hiervoor: <https://www.rivm.nl/diagnostisch-vademecum-infectieziekten>. Het is van groot belang deze expertise en diagnostiek op peil te houden vanwege toenemende migratie van exotische teken naar ons land vanwege klimaatverandering.

Verder en dieper onderzoek naar de wisselwerking tussen teken, pathogenen en gastheren en de complexe moleculaire interacties die daaraan ten grondslag liggen zal handvatten geven voor het ontwikkelen van effectieve anti-tekenmedicijnen en -vaccins. Voor het bestrijden en de preventie van tekenbeetziekten is het cruciaal om een regionale, nationale en een mondiale samenwerking te hebben tussen verschillende disciplines en sectoren, met als doel in een 'One Health'-benadering een optimale gezondheid voor mens, dier en hun omgeving te bewerkstelligen.

Figuur 4. Chemokine (CXCL1)-geïnduceerde migratie van leukocyten wordt geremd door het tekeneiwit *evasine-3* ($n = 5$; $p < 0,01$; 10 nM).



Referenties

1. Horak IG, Camicas JL, Keirans JE. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. *Exp Appl Acarol.* 2002;28:27-54.
2. Adeolu M, Gupta RS. A phylogenomic and molecular marker based proposal for the division of the genus *Borrelia* into two genera: the emended genus *Borrelia* gen. nov. containing the members of the Lyme disease *Borrelia* (*Borrelia burgdorferi* sensu lato complex). *Antonie van Leeuwenhoek.* 2014;105:1049-72.
3. Margos G, Marosevic D, Cutler S, et al. There is inadequate evidence to support the division of the genus *Borrelia*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2017;67:1081-4.
4. Stevenson B, Fingerle V, Wormser GP, Margos G. Public health and patient safety concerns merit retention of Lyme borreliosis-associated spirochetes within the genus *Borrelia*, and rejection of the genus novum *Borrelia*. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019;10:1-4.
5. Margos G, Gofton A, Wibberg D, et al. The genus *Borrelia* reloaded. *PLoS One.* 2018;13:e0208432.
6. Platonov AE, Karan LS, Kolyasnikova NM, et al. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:1816-23.
7. Wagemakers A, Staarink PJ, Sprong H, Hovius JW. *Borrelia miyamotoi*: a widespread tick-borne relapsing fever spirochete. *Trends Parasitol.* 2015;31:260-9.
8. Hovius JW, de Wever B, Sohne M, et al. A case of meningoencephalitis by the relapsing fever spirochaete *Borrelia miyamotoi* in Europe. *Lancet.* 2013;382:658.
9. Hoornstra D, Koetsveld J, Sprong H, Platonov AE, Hovius JW. *Borrelia miyamotoi* disease in an immunocompetent patient, western Europe. *Emerg Infect Dis.* 2018;24:1770-2.
10. Jahfari S, Hofhuis A, Fonville M, van der Giessen J, van Pelt W, Sprong H. Molecular detection of tick-borne pathogens in humans with tick bites and erythema migrans, in the Netherlands. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016;10:e0005042.
11. van Dobbenburgh A, van Dam AP, Fikrig E. Human granulocytic ehrlichiosis in western Europe. *N Engl J Med.* 1999;340:1214-6.
12. Verheyen J, Govaert K, Eykens L, De Cauwer H. Koorts van onbekende oorsprong, met als oorzaak anaplasmoze. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2006;150:2766-9.
13. Wielinga PR, Fonville M, Sprong H, Gaasenbeek C, Borgsteede F, van der Giessen JW. Persistent detection of *Babesia EU1* and *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* in the Netherlands during a 5-year surveillance: 2003-2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009;9:119-22.
14. Süß J. Tick-borne encephalitis 2010: epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia-an overview. *Ticks Tick Borne Dis* 2011;2:2-15.
15. Dai X, Shang G, Lu S, Yang J, Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7:74.
16. Jahfari S, de Vries A, Rijks JM, et al. Tick-borne encephalitis virus in ticks and roe deer, the Netherlands. *Emerg Infect Dis.* 2017;23:1028-30.
17. Uiterwijk M, Ibáñez-Justicia A, van de Vossen B, et al. Imported *Hyalomma* ticks in the Netherlands 2018-2020. *Parasit Vectors.* 2021;14:244.
18. Estrada-Peña A, Sánchez N, Estrada-Sánchez A. An assessment of the distribution and spread of the tick *Hyalomma marginatum* in the western Palearctic under different climate scenarios. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012;12:758-68.
19. Kaya A, Engin A, Güven AS, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever disease due to tick bite with very long incubation periods. *Int J Infect Dis.* 2011;15:e449-e452.
20. Agravat VJ, Agarwal S, Piparva KG. Crimean-Congo haemorrhagic fever: an overview. *Int J Res Med Sci.* 2014;2:392-7.
21. Bajpai S, Nadkar MY. Crimean Congo hemorrhagic fever: requires vigilance and not panic. *J Assoc Physicians India.* 2011;59:164-7.
22. Macher BA, Galili U. The Gal α 1,3Gal β 1,4GlcNAc-R (α -Gal) epitope: a carbohydrate of unique evolution and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1780:75-88.
23. van Nunen SA, O'Connor KS, Clarke LR, Boyle RX, Fernando SL. An association between tick bite reactions and red meat allergy in humans. *Med J Aust.* 2009;190:510-1.
24. van Nunen S. Tick-induced allergies: mammalian meat allergy, tick anaphylaxis and their significance. *Asia Pac Allergy.* 2015;5:3-16.
25. Chung CH, Mirakhor B, Chan E, et al. Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactose- α -1,3-galactose. *N Engl J Med.* 2008;358:1109-17.
26. Commins SP. Invited commentary: alpha-gal allergy: tip of the iceberg to a pivotal immune response. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016;16:61.
27. Pointreau Y, Commins SP, Calais G, Watier H, Platts-Mills TA. Fatal infusion reactions to cetuximab: role of immunoglobulin E-mediated anaphylaxis. *J Clin Oncol.* 2012;30:334-5.
28. Klompen JS, Black WC 4th, Keirans JE, Oliver JH Jr. Evolution of ticks. *Annu Rev Entomol.* 1996;41:141-61.
29. van den Kerkhof DL, Nagy M, Wichapong K, et al. Inhibition of platelet adhesion, thrombus formation, and fibrin formation by a potent α IIb β 3 integrin inhibitor from ticks. *Res Pract Thromb Haemost.* 2020;5:231-42.
30. Denisov SS, Ippel JH, Castoldi E, Mans BJ, Hackeng TM, Dijkgraaf I. Molecular basis of anticoagulant and anticomplement activity of the tick salivary protein Salp14 and its homologs. *J Biol Chem.* 2021;297:100865.
31. Denisov SS, Ippel JH, Heinzmann ACA, et al. Tick saliva protein Evasin-3 modulates chemotaxis by disrupting CXCL8 interactions with glycosaminoglycans and CXCR2. *J Biol Chem.* 2019;294:12370-9.
32. Denisov SS, Ramírez-Escudero M, Heinzmann ACA, et al. Structural characterization of anti-CCL5 activity of the tick salivary protein evasin-4. *J Biol Chem.* 2020;295:14367-78.
33. Denisov SS, Heinzmann ACA, Vajen T, et al. Tick saliva protein Evasin-3 allows for visualization of inflammation in arteries through interactions with CXC-type chemokines deposited on activated endothelium. *Bioconjug Chem.* 2020;31:948-55.

Encefalitis op basis van humaan herpesvirus 7 bij een immunocompetente patiënt?

Sjacky Cooijmans, Tom Olde Dubbelink, Bert Mulder

Samenvatting

In dit artikel presenteren wij een casus met een mogelijke HHV-7-encefalitis. Het betreft een 23-jarige man die werd opgenomen met het klinische beeld van een infectieuze encefalitis. Bacteriële kweken en routine virale PCR bleven negatief. Bij de validatie van een nieuwe screenende PCR bleek de liquor van patiënt humaan herpesvirus 7 (HHV-7) positief. HHV-7 behoort tot het Roseolovirus-genus van de herpesvirus-subfamilie. De kliniek en behandeling van HHV-7-infecties is minder goed bekend dan die van aanverwante virussen, zoals HHV-6 en CMV. Het diagnosticeren van HHV-7-gerelateerde neurologische ziekten is uitdagend, met name omdat de interpretatie van een positieve PCR in liquor complex is. Het virus is immers ook gedetecteerd in post-mortemhersenweefsel, blijft latent aanwezig in lymfocyten en is aangetoond in liquor van patiënten zonder bijpassende kliniek.

Summary

In this article we present a case with a possible HHV-7 encephalitis. A 23-year old male was admitted to the hospital with the clinical signs of an infectious encephalitis. Bacterial cultures and routine viral diagnostic tests remained negative. During the validation of a new screening PCR, HHV-7 was tested positive. HHV-7 is part of the Roseolovirus genus of the herpesvirus subfamily. The presentation and treatment of HHV-7 infections is less well known than that of similar viruses, like HHV-6 and CMV. Diagnosing HHV-7 related neurologic disease can be challenging, because interpretation of positive PCR results in liquor is complex. This is due to detection of the virus in post-mortem brain tissue, its latency in lymphocytes and detection of the virus in liquor of patients without matching clinical features.

Casus

Een 23-jarige man met een blanco voorgeschiedenis werd in verband met braken, diarree en veranderd gedrag door de dienstdoende neuroloog gezien op de spoedeisende hulp van het Canisius Wilhelmina Ziekenhuis (CWZ). De klachten waren 10 dagen eerder ontstaan na een gezamenlijke maaltijd en langzaam progressief. Vrienden met wie patiënt de maaltijd had genuttigd hadden slechts milde gastro-intestinale klachten. De reisanamnese was negatief. De huisarts had ciprofloxacine voorgeschreven vanwege een verdenking op een bacteriële gastro-enteritis vijf dagen voor presentatie op de spoedeisende hulp. Drie dagen voor presentatie was de patiënt op de huisartsenpost geweest in verband met onvermogen tot mictie. Er bleek sprake van een retentieblaas van 1,5 liter, waarvoor eenmalige katheterisatie plaatsvond. Retrospectief was er mogelijk destijds al sprake van hallucinaties en veranderd gedrag. Twee dagen later plaatste de eigen huisarts een verblijfskatheter. Bij lichamelijk onderzoek werd een ziekgende patiënt gezien, ABC stabiel, met een lichaamstemperatuur van 37,8°C. Bij neurologisch onderzoek was de patiënt alert, E4M6V4-5, aandacht te trekken en te behouden, georiënteerd in plaats maar niet in tijd. Patiënt voerde instructies uit, maar was matig coöperatief. Bij het testen van de oogvolgbewegingen werd een horizontale oscillerende beweging gezien van beide ogen, zowel in rust als bij volgen. Er werd sporadisch een myoklonie van de schouders en handen geobserveerd. Overig neurologisch onderzoek was niet afwijkend.

Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen,
 drs. S. Cooijmans, klinisch geriater in opleiding,
 drs. T.B.G. Olde Dubbelink, neuroloog in opleiding,
 dr. B. Mulder, arts-microbioloog.
 Correspondentie-adres: dr. B. Mulder (b.mulder@cwz.nl).

Laboratoriumonderzoek toonde een verhoogd leukocytengetal (waarde: $11,0 \times 10^9/l$, referentiewaarde: $4,0-10,0 \times 10^9/l$) en een verhoogd CRP (waarde: 38 mg/l, referentiewaarde: 0-5 mg/l), met een normale bezinking. Er werd een lumbaalpunctie verricht, met een verhoogde openingsdruk (waarde: 36 cm H₂O, referentiewaarde: 7-20 cm H₂O) bij een patiënt met een gespannen rug. De punctie toonde een verhoogd leukocytengetal (waarde: $427 \times 10^6/l$, referentiewaarde $< 5 \times 10^6/l$) waarvan 83 procent lymfocyten, erythrocyten van $1000 \times 10^6/l$, mild verlaagd glucose (waarde: 2,6 mmol/l, referentiewaarde: 2,7-4,4 mmol/l), normaal totaaleiwit (waarde: 2,22 g/l, referentiewaarde: 0,21-0,44 g/l) en een verhoogd lactaat (waarde: 4.1, referentiewaarde: 1,2-2,2 mmol/l). Het grampreparaat toonde geen bacteriën.

Er werd gedacht aan een (meningo-)encefalitis, die gezien de lymfocyttaire pleiocytose in de liquor het meest verdacht was voor een virale etiologie. Vanwege de gastro-intestinale klachten bij presentatie stonden ook *Listeria monocytogenes* en enterovirussen hoog in de differentiaaldiagnose. Er werd liquoronderzoek ingezet naar herpessimplexvirus (HSV)-1, HSV-2, varicellazostervirus (VZV), enterovirussen en parechovirus; ook werd een nasofaryngeale SARS-CoV-2 PCR afgenomen. In serum werd gekeken naar epstein-barrvirus (EBV), *Borrelia burgdorferi* en *Treponema pallidum*. Feces werd niet onderzocht, omdat patiënt tijdens opname geen diarreeklachten meer had. Een empirische behandeling met amoxicilline intraveneus (iv) 2000 mg 6x daags, ceftriaxon iv 2000 mg 2x daags, aciclovir iv 3x daags 10 mg/kg en dexamethason iv 10 mg 4x daags werd gestart.

In het grampreparaat van de liquor werden geen bacteriën gezien en ook de kweken bleven negatief. De PCR in liquor op HSV-1, HSV-2, VZV, enterovirussen en parechovirus was negatief, ook de SARS-CoV-2 PCR was negatief. EBV-serologie paste bij een doorgemaakte EBV-infectie langer dan zes weken geleden; *Treponema pallidum*- en *Borrelia burgdorferi*-serologie waren negatief. Aangezien de routinediagnostiek negatief bleef, werd gebruikgemaakt van de MeningoFinder® 2Smart (Pathofinder), die op dat moment werd gevalideerd. Daaruit bleek de PCR op humaan herpesvirus 7 (HHV-7) in liquor positief, op bloed was de PCR negatief. Daarop werd besloten dat er geen indicatie

was voor antibiotische behandeling en werd ook aciclovir gestaakt.

Aanvullende diagnostiek via MRI-cerebrum toonde diffuus leptomenigeale aankleuring. Vanwege aanhoudende urineretentie en erectiestoornissen werd een MRI-myelum verricht, die een laesie op C2 aantoonde, differentiaaldiagnostisch passend bij myelitis dan wel acute gedissemineerde encefalomyelitis (ADEM).

Tijdens opname ging de patiënt klinisch achteruit, met koorts, algehele malaise, de hik en een nieuwe diplopie. Een nieuwe MRI werd verricht, die supratentorieel een marginale toename van een kleine laesie in de basale gangliën liet zien en een kleine laesie in het corpus callosum. Verder was er sprake van ongewijzigde diffuus versterkte leptomenigeale aankleuring. Differentiaaldiagnostisch werd onder andere aan ADEM gedacht, dan wel progressie van afwijkingen ten gevolge van HHV-7. Gezien ADEM in de differentiaaldiagnose stond werd gestart met methylprednisolon iv voor drie dagen, nadien oraal afgebouwd in vier tot zes weken. Ook werd in overleg met een academisch centrum gestart met foscarnet voor totaal 10 dagen. Na het starten van de therapie verbeterde de kliniek van de patiënt al na één dag.

Aanvullende diagnostiek naar een onderliggende immuunstoornis werd verricht, waarbij onder andere hiv werd uitgesloten. Ook na uitgebreide analyse via de interne geneeskunde werden geen aanwijzingen voor een immuundeficiëntie gevonden. Na een totale opnameduur van 23 dagen was patiënt voldoende hersteld voor ontslag naar huis met een poliklinisch revalidatietraject. Bij ontslag was de cognitieve functie van de patiënt verbeterd, met als voornaamste resterende klacht urineretentie.

Beschouwing

Het virus en epidemiologie

HHV-7 behoort tot het Roseolovirus-genus van de bèta-herpesviridae. Het genoom is lineair, dubbelstrengs en ongeveer 145 kb. Het virus toont gelijkenissen met het humaan herpesvirus 6 (HHV-6) en cytomegalovirus (CMV) [1]. HHV-7 is een lymfotroop virus dat zich repliceert in CD4 T-lymfocyten en kan na latente aanwezigheid in T-cellen gereactiveerd worden [2]. HHV-7 komt over de gehele wereld voor; gemiddeld is meer dan 95 procent van de volwassenen seropositief [3]. Een HHV-7-infectie doet

zich meestal voor tijdens de kinderjaren, gemiddeld heeft 65 procent de ziekte doorgemaakt op een leeftijd van 2 jaar en is meer dan 90 procent seropositief op een leeftijd van 5 jaar [4-6]. De piek van de infectie is later dan bij infectie met HHV-6, die zich meestal voordoet bij kinderen tussen 6 en 18 maanden [4,7]. HHV-7 wordt uitgescheiden via speeksel, de submandibulaire klieren zijn het voornaamste reservoir voor het virus [8,9]. Ook is HHV-7-DNA gedetecteerd in moedermelk, vaginale afscheiding en in post-mortemhersenweefsel, en het kan latent aanwezig zijn in lymfocyten [10,11]. Horizontale transmissie via speeksel lijkt echter de meest frequente manier van verspreiding te zijn.

Kliniek

Over het klinische beeld dat HHV-7 veroorzaakt is minder bekend dan over het klinische beeld van vergelijkbare virussen, zoals HHV-6. HHV-7 is geassocieerd met de zesde ziekte (exanthema subitum), hoewel HHV-6 als verwekker gebruikelijker is [12]. Daarnaast wordt er in de literatuur ook een associatie beschreven tussen HHV-7 en koortsconvulsies [13,14], en koortsende ziekte zonder huidafwijkingen [5].

Een primaire infectie met HHV-7 op latere leeftijd lijkt met meer complicaties gepaard te gaan, waarbij met name neurologische ziektebeelden zoals encefalitis, meningitis en myelitis voorkomen [15]. Casuïstiek van HHV-7-geassocieerde encefalitis is beschreven voor zowel immuungecompromitteerde als immunocompetente patiënten [16,17]. Het onderscheid tussen primo-infecties of reactivatie is hierbij lastig te maken. In casuïstieken zijn de meest beschreven symptomen bij HHV-7-gerelateerde neurologische aandoeningen hoofdpijn, koorts, geleidelijk verlies van kracht in de ledematen, desoriëntatie en verwardheid, slappe paraplegie, lokale anesthesie en/of hypo-esthesie voor pijn en lichte aanraking, urineretentie en obstipatie [18]. In een artikel van Schwartz et al. werden bij kinderen en adolescenten van ouder dan 5 jaar met HHV-7-encefalitis bij presentatie de volgende symptomen beschreven: veranderd niveau van bewustzijn gedurende 24 uur of meer (100 procent), koorts (78 procent), hoofdpijn (67 procent) en convulsies (56 procent) [15]. Bij meningitis geassocieerd met HHV-7 waren de symptomen bij presentatie: koorts (100 procent), hoofdpijn (63 procent), meningisme (50

procent) en huiduitslag (25 procent) [15].

Diagnostiek

De klinische relevantie van een positieve PCR voor HHV-7 in liquor is lastig te interpreteren, aangezien het virus is aangetoond in post-mortemhersenweefsel bij volwassenen en het virus latent aanwezig blijft in lymfocyten [2,19]. In het artikel van Schwartz et al. wordt een voorstel gedaan voor diagnostiek naar HHV-7 als verwekker voor neurologische ziektebeelden, waarbij naast een PCR op liquor ook serologie wordt meegenomen in de diagnostiek [15]. Hieruit volgen de volgende criteria:

- *Bevestigde HHV-7-infectie:*
neurologische symptomen, HHV-7-DNA gedetecteerd in liquor met PCR, primaire HHV-7-infectie serologisch bevestigd en geen alternatieve verklaring geïdentificeerd.
- *Mogelijke HHV-7-infectie:*
neurologische symptomen, HHV-7-DNA gedetecteerd in liquor met PCR, serologische testen ontbreken of onduidelijk, en geen alternatieve verklaring.
- *HHV-7-infectie uitgesloten:*
HHV-7-DNA gedetecteerd in liquor met PCR, maar serologische test passend bij doorgemaakte HHV-7-infectie en/of alternatieve verklaring.

Problematisch bij implementatie van deze criteria is dat er momenteel in Nederland geen serologisch onderzoek van HHV-7 wordt verricht. Ook wordt met deze criteria een HHV-7-infectie uitgesloten wanneer het serologische beeld past een doorgemaakte HHV-7-infectie, terwijl dit bij volwassenen vaak het geval zal zijn. Een reactivatie wordt hiermee niet uitgesloten. Aangezien we in Nederland nog geen gebruik kunnen maken van serologie voor HHV-7, zou een confirmatie-PCR (in een ander centrum) van toegevoegde waarde zijn.

Ook zou een tweede liquorpunctie op een volgend tijdstip kunnen worden overwogen om de waarschijnlijkheid van de diagnose te versterken [17]. Aanvullende bloed- en liquorchemie bij HHV-7-encefalitis is vaak niet onderscheidend [20]. In het artikel van Scharz et al. werd bij de HHV-7-patiënten in liquor een milde pleiocytose gezien met voornamelijk

lymfocyten (60-100 procent) [15]. Wat betreft aanvullend radiologisch onderzoek kunnen op CT en MRI onder andere afwijkingen worden gezien in de cortex, cerebellum en hippocampi [21,22]. In het onderzoek van Schwartz et al. werden echter in de meerderheid van de gevallen geen afwijkingen gezien op beeldvorming [15].

De in de huidige casus toegepaste MeningoFinder® 2Smart is een multiplex-PCR die gebruikmaakt van smeltcurve-analyses voor detectie van pathogenen. Bij de Meningofinder® volgt na een reverse-transcriptasestap een amplificatiestap die gebruikmaakt van één universeel PCR-primerpaar [23]. Eén primer van dit primerpaar wordt gelabeld met 6-carboxyfluoresceïne (FAM). Gelijktijdig wordt een kunstmatige sequentie ingebracht in het reactieproduct. De detectie van het FAM-gelabelde PCR-product wordt gedaan met een smeltcurve-analyse. Detectieprobes, passend op de kunstmatige sequenties, zijn gelabeld met verschillende fluorochromen en variëren in smelttemperatuur. Deze probes maken het daarmee mogelijk om reactieproducten te detecteren en corresponderende pathogenen te achterhalen. Aan het begin van de procedure wordt een interne controle toegevoegd.

De Meningofinder® heeft de volgende 22 targets: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Neisseria meningitidis*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*/ *Borrelia miyamotoi*, *Escherichia coli* K1, *Cryptococcus gattii sensu lato*, *Cryptococcus neoformans sensu lato*, HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, CMV, HHV-6, HHV-7, HHV-8, humaan enterovirus, parechovirus, bofvirus en mazelenvirus. Ten tijde van de casus was voor de Meningofinder® een PCR-panel in de validatiefase; inmiddels is de validatie naar tevredenheid afgerond en is in het CWZ gekozen voor een minder uitgebreid neurotroop moleculair panel. Bij het inzetten van het panel in de huidige casus werd HHV-7 gedetecteerd in liquor. Relevant voor de interpretatie is dat de Meningofinder® geen kwantificering van de hoeveelheid virus-DNA geeft. Daarnaast bestaat er bij multiplex-PCR een risico op kruisreacties en vorming van primer-dimers [24]. In een onderzoek uit 2009 waarin de Meningofinder® met zes targets werd getest, werden echter geen kruisreacties gedetecteerd [25].

HHV-7 in hersenweefsel

In een studie van Chan et al. werd post mortem onderzocht wat de prevalentie is van HHV-7 in de hersenen [19]. Uit hersenweefselbiopten werd DNA verkregen via de QIAamp Tissue Kit (QIAGEN, Duitsland). Detectie van HHV-7 DNA vond plaats met nested-PCR. De geamplificeerde producten ondergingen elektroforese en DNA werd gevisualiseerd met een ethidiumbromidekleuring. Bij een positief monster werd een tweede PCR uitgevoerd. Wanneer in deze studie per hersenbiopt werd gekeken naar het aantal positieven voor HHV-7 was 5 procent (15/300) van de hersenbiopten positief. Als er per patiënt werd gekeken, was 36,7 procent (11/30) van de patiënten HHV-7-positief [19]. Bij een eerdere studie met dezelfde onderzoeksgroep werd een prevalentie van 3,5 procent gevonden (3/84 patiënten) [26]. Hierbij werd dezelfde PCR-techniek gebruikt; verschillend was onder andere dat alleen biopten van de fontaalkwab werden genomen. In een artikel van Kempf et al. werd geen HHV-7 gedetecteerd in hersenweefsel; hierbij was echter sprake van slechts een klein aantal participanten [27]. Het hersenweefsel werd geanalyseerd met nested-PCR en immunohistochemie.

Retrospectief is met dezelfde experimentele techniek (Meningofinder®) als toegepast bij de patiënt, in spijtliquoren van het CWZ Nijmegen gekeken naar het percentage HHV-7 positieven. Hierbij werd 3 procent (2/61) van de liquoren positief bevonden voor HHV-7; bij aanvullend dossieronderzoek bleek geen sprake van bijpassende kliniek. De positieve monsters zijn niet bevestigd met een tweede PCR in een extern laboratorium.

Behandeling

Een infectie met HHV-7 is in principe zelflimiterend en behoeft daarom meestal geen behandeling. Voor neurologische ziektebeelden geassocieerd met HHV-7 is dit echter nog niet opgehelderd, er is nog geen standaardbehandeling gedefinieerd. In casuïstieken worden verschillende behandelingen beschreven, waarbij onder andere een goede respons na toediening van intraveneuze immunoglobulinen in combinatie met corticosteroiden wordt gezien [16,28]. Ook wordt antivirale behandeling met ganciclovir, foscarnet en cidofovir beschreven. Foscarnet wordt als de eerstekeuzetherapie gezien voor meer ernstige casussen [17,18]. Gebruik van aciclovir en andere

thymidinekinase-afhankelijke medicatie wordt niet aangeraden, vanwege marginale effectiviteit tegen HHV-7 [29]. De snelle respons bij onze patiënt na toediening van foscarnet vormt echter geen argument voor de diagnose HHV-7-encefalitis.

Discussie

Het blijft een uitdaging om de diagnose HHV-7-encefalitis met zekerheid te stellen, zoals de huidige casus illustreert. Dit heeft verschillende redenen. Zo werd HHV-7 gevonden in 3 procent van de spijtliquoren in het CWZ tijdens de validatie van de Meningofinder[®] zonder bijpassende kliniek. Daarnaast kan HHV-7 latent aanwezig blijven in lymfocyten en is het aangetoond in post-mortem hersenweefsel van patiënten zonder bijpassende kliniek [2,19]. Ook draagt de toegepaste PCR-techniek bij aan de complexiteit, met name doordat geen Ct-waarden worden verkregen en de hoeveelheid virus-DNA niet gekwantificeerd kan worden. Verder geeft een multiplex-PCR een hoger risico op kruisreacties en vorming van primer-dimers. In een eerdere studie over de Meningofinder[®] met zes targets werden echter geen aanwijzingen voor kruisreacties gevonden [25].

Hoewel nooit alle alternatieve verklaringen kunnen worden uitgesloten en de diagnose HHV-7-encefalitis op basis van één PCR-onderzoek altijd met enige onzekerheid moet worden geïnterpreteerd, zou de huidige casus wel in de beschrijvingen kunnen passen van HHV-7-casuïstiek in de literatuur [15,21]. Aanvullend onderzoek naar zeldzame verwekkers van encefalitis, zoals tick-borne encefalitis of westnijlvirus, is echter niet uitgevoerd. Deze verwekkers zijn daarom niet uitgesloten. Mede gezien de negatieve reisanamnese van patiënt werd hier geen aanvullend onderzoek naar verricht.

Met aanvullende HHV-7-diagnostiek had de diagnose HHV-7-encefalitis waarschijnlijker gemaakt kunnen worden. Ten eerste met serologie, maar dit is momenteel niet voorhanden in Nederland. Ten tweede met een confirmatie-PCR op de liquor in een extern laboratorium, hiervoor was echter onvoldoende materiaal. Tot slot had een herhaalde lumbaalpunctie met aanhoudende versterkte amplificatie van HHV-7 de diagnose kunnen ondersteunen [17].

Indien ervan uitgegaan wordt dat het in de huidige casus een HHV7-encefalitis betreft, bestaat de vraag of het om een primo-infectie of een reactivatie gaat. Dit kan met de huidige diagnostiek niet worden

aangetoond. Aangezien er geen aanwijzingen waren voor immuunstoornissen en de patiënt nog relatief jong was, is de kans dat dit een primo-infectie betreft relatief groot. Bij kinderen verloopt een primo-HHV7-infectie vaak als de zesde ziekte, juist bij adolescenten en ouderen wordt in de literatuur een beloop beschreven dat meer passend is bij de huidige casus [15,21].

Conclusie

Concluderend kan worden gesteld dat aan HHV-7 gedacht moet worden als potentiële verwekker van een onverklaard encefalitisbeeld, ook bij immuun-competente volwassenen. Dit artikel benadrukt het belang van moleculaire diagnostiek in het geheel van de diagnostiek van meningitis en encefalitis, waardoor sneller een beeld verkregen kan worden van de mogelijke verwekker. Anderzijds onderstreept het artikel ook de complexiteit van interpretatie van moleculaire diagnostiek. De diagnostiek naar HHV-7 bij neurologische ziektebeelden is tot op heden niet sluitend. Om een dergelijke diagnose in de toekomst met meer zekerheid te kunnen stellen zal de diagnostiek in Nederland grondig tegen het licht gehouden moeten worden door gespecialiseerde virologen voor de serologie en moleculair-biologen voor de vergelijking van de voor- en tegenargumenten van het gebruik van gesloten-circuitsystemen zoals de Meningofinder[®].

Dankbetuiging

Michelle ten Brinck, arts-assistent neurologie, voor haar klinische bijdrage; Femke Wolters, aios medische microbiologie en Annelies Post, internist in opleiding voor tekstuele opmerkingen; Nicole van Bergeijk voor onderzoek Meningofinder[®].

Referenties

1. Klusmann JP, Krueger E, Sloots T, et al. Ultrastructural study of human herpesvirus-7 replication in tissue culture. *Virchows Arch*. 1997;430:417-26.
2. Katsafanas GC, Schirmer EC, Wyatt LS, et al. In vitro activation of human herpesviruses 6 and 7 from latency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:9788-92.
3. Wyatt LS, Rodriguez WJ, Balachandran N, et al. Human herpesvirus 7: antigenic properties and prevalence in children and adults. *J Virol*. 1991;65:6260-5.
4. Huang LM, Lee CY, Liu MY, et al. Primary infections of human herpesvirus-7 and herpesvirus-6: a comparative, longitudinal study up to 6 years of age. *Acta Paediatr*. 1997;86:604-8.

5. Ward KN. The natural history and laboratory diagnosis of human herpesviruses-6 and -7 infections in the immunocompetent. *J Clin Virol.* 2005;32:183-93.
6. Clark DA, Freeland ML, Mackie LK, et al. Prevalence of antibody to human herpesvirus 7 by age. *J Infect Dis.* 1993;168:251-2.
7. Slok E. (2018), Zesde ziekte richtlijn. <https://lci.rivm.nl/richtlijnen/zesde-ziekte> (accessed 5-7-2020).
8. Ihira M, Yoshikawa T, Ohashi M, et al. Variation of human herpesvirus 7 shedding in saliva. *J Infect Dis.* 2003;188:1352-4.
9. Sada E, Yasukawa M, Ito C, et al. Detection of human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7 in the submandibular gland, parotid gland, and lip salivary gland by PCR. *J Clin Microbiol.* 1996;34:2320-1.
10. Fujisaki H, Tanaka-Taya K, Tanabe H, et al. Detection of human herpesvirus 7 (HHV-7) DNA in breast milk by polymerase chain reaction and prevalence of HHV-7 antibody in breast-fed and bottle-fed children. *J Med Virol.* 1998;56:275-9.
11. Caserta MT, Hall CB, Schnabel K, et al. Human herpesvirus (HHV)-6 and HHV-7 infections in pregnant women. *J Infect Dis.* 2007;196:1296-303.
12. Ramsay M, Reacher M, O'Flynn C, et al. Causes of morbilliform rash in a highly immunised English population. *Arch Dis Child.* 2002;87:202-6.
13. Caserta MT, Hall CB, Schnabel K, et al. Primary human herpesvirus 7 infection: a comparison of human herpesvirus 7 and human herpesvirus 6 infections in children. *J Pediatr.* 1998;133:386-9.
14. Clark DA, Kidd IM, Collingham KE, et al. Diagnosis of primary human herpesvirus 6 and 7 infections in febrile infants by polymerase chain reaction. *Arch Dis Child.* 1997;77:42-5.
15. Schwartz KL, Richardson SE, Ward KN, et al. Delayed primary HHV-7 infection and neurologic disease. *Pediatrics.* 2014;133:e1541-7.
16. Parra M, Alcalá A, Amorós C, et al. Encephalitis associated with human herpesvirus-7 infection in an immunocompetent adult. *Virology.* 2017;14:97.
17. Corral Í, Sainz de la Maza S, Rodríguez M, et al. Molecular detection of human herpesvirus 7 DNA in cerebrospinal fluid from adult patients with neurological disorders. *J Neurovirol.* 2018;24:333-8.
18. Riva N, Franconi I, Meschiari M, et al. Acute human herpes virus 7 (HHV-7) encephalitis in an immunocompetent adult patient: a case report and review of literature. *Infection.* 2017;45:385-8.
19. Chan PK, Ng HK, Cheung JL, et al. Prevalence and distribution of human herpesvirus 7 in normal brain. *J Med Virol.* 2000;62:345-8.
20. Flamand L, Lautenschlager I, Kruger G, et al. (2014) Human Herpesviruses HHV-6A, HHV-6B and HHV-7: Diagnosis and Clinical Management (Third edition). Amsterdam, the Netherlands: Elsevier.
21. Ward KN, Kalima P, MacLeod KM, et al. Neuroinvasion during delayed primary HHV-7 infection in an immunocompetent adult with encephalitis and flaccid paralysis. *J Med Virol.* 2002;67:538-41.
22. Pohl-Koppe A, Blay M, Jäger G, et al. Human herpes virus type 7 DNA in the cerebrospinal fluid of children with central nervous system diseases. *Eur J Pediatr.* 2001;160:351-8.
23. Pathofinder (n.d.). Single tube Multiplex Amplification in Real Time. <https://www.pathofinder.com/technology/smartfinder> (accessed 11-7-2021)
24. Markoulatos P, Siafakas N, Moncany M. Multiplex polymerase chain reaction: a practical approach. *J Clin Lab Anal.* 2002;16:47-51.
25. Wolffs PF, Vink C, Keijden J, et al. Evaluation of MeningoFinder, a novel multiplex ligation-dependent probe amplification assay for simultaneous detection of six virus species causing central nervous system infections. *J Clin Microbiol.* 2009;47:2620-2.
26. Chan PK, Ng HK, Hui M, et al. Presence of human herpesviruses 6, 7, and 8 DNA sequences in normal brain tissue. *J Med Virol.* 1999;59:491-5.
27. Kempf W, Adams V, Mirandola P, et al. Persistence of human herpesvirus 7 in normal tissues detected by expression of a structural antigen. *J Infect Dis.* 1998;178:841-5.
28. Aburakawa Y, Katayama T, Saito T, et al. Limbic Encephalitis Associated with Human Herpesvirus-7 (HHV-7) in an Immunocompetent Adult: The First Reported Case in Japan. *Intern Med.* 2017;56:1919-23.
29. Yoshikawa T. Human herpesvirus-6 and -7 infections in transplantation. *Pediatr Transplant.* 2003;7:11-7.

Anna Maria Dingemans-Dumas (1942-2021)

Gerard van Doornum

Op 2 augustus 2021 is An Dumas op 78-jarige leeftijd overleden te Lage Zwaluwe, waar zij met haar echtgenoot Robert Louis Dingemans woonachtig was. In haar werkzame leven was zij verbonden met haar geboortestad Rotterdam.

Haar carrière in de medische microbiologie en in het bijzonder in de virologie begon in 1965 toen zij als analiste ging werken op de kleine unit virologie van het bacteriologisch laboratorium van het toenmalige Dijkzigt Ziekenhuis, waar dr. G.J.P. Schaap in 1962 was aangesteld als hoofd. Het in 1961 geopende gemeentelijke ziekenhuis werd al snel verbouwd en aangepast volgens de eisen voor een academisch ziekenhuis bij de in 1966 geopende medische faculteit te Rotterdam. Dit bood haar de mogelijkheid om werken op het laboratorium te combineren met een studie geneeskunde in de jaren zeventig en zich daarna te specialiseren in de medische microbiologie. In 1977 werd zij staflid bij het laboratorium. De academische vorming werd afgerond met een promotie (cum laude) in 1981 aan de Universiteit van Amsterdam bij professor Jan van der Noordaa op het proefschrift "Genoom van varicella-zoster virus: isolatie en karakterisering".

In 1983 is zij Schaap opgevolgd in de functie van hoofd van het virologisch laboratorium van de GGD Rotterdam. Het bacteriologisch laboratorium van het Dijkzigt Ziekenhuis was namelijk ondertussen gesplitst in een apart bacteriologische en virologische eenheid, waarbij het microbiologisch onderzoek ten behoeve van de openbare gezondheidszorg was verplaatst naar het gebouw van de Rotterdamse GGD aan de Schiedamse Dijk. In 1995 werd het laboratorium afgestoten door de GGD en overgeplaatst naar het toenmalige Zuiderziekenhuis. An Dumas bleef bij de GGD werkzaam als hoofd van de afdeling infectieziekten. Daarnaast was zij vanaf 1982 tevens

verbonden aan het Ikazia Ziekenhuis te Rotterdam als arts-microbioloog.

Binnen de NVMM is zij eveneens actief geweest. In de eerste plaats als eerste voorzitter van de Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie (1989-1993). De doelstelling van deze werkgroep is de bevordering van de virusdiagnostiek en het stimuleren van de studie van alle aspecten van virale infecties bij de mens. Deze werkgroep was overigens begonnen in 1964 als een maandelijks overleg tussen de vertegenwoordigers van de toenmalige virus laboratoria bij het RIV te Bilthoven, Ned. Inst. Praev. Geneeskunde Leiden, Laboratorium voor Gezondheidsleer Amsterdam, Dijkzigtziekenhuis/GGD Rotterdam en St. Elisabeth Ziekenhuis Tilburg.

Halverwege de jaren tachtig van de vorige eeuw stonden op de agenda van deze werkgroep nog uitvoerig behandelde onderwerpen als gebruik van ELISA-technieken ten opzichte van andere technieken waaronder complementbindingsreacties. Het belang van moleculaire technieken werd echter door haar ook gezien. Ik citeer de conclusie in een artikel van haar hand uit 1984 over snelle virusdiagnostiek: "Zeker is dat de recente verworvenheden van de moleculaire biologie en de immunologie de virologische diagnostiek in de toekomst grondig zullen beïnvloeden."

Binnen de NVMM was An Dumas van begin jaren negentig tot 1999 lid van het Concilium Medico-Microbiologicum met als taak de kwaliteit van de opleiding in het onderdeel virologie bij de verschillende opleidingsinstituten te bewaken. Destijds werd een dergelijke waakhond noodzakelijk geacht, daar slechts in een beperkt aantal van de erkende opleidingsinstituten de mogelijkheden voor een degelijke scholing in dit deel van de microbiologie.

aanwezig waren (persoonlijke mededeling J. van de Noordaa). Haar bevrogen en soms felle discussietoone en tegelijkertijd gedetailleerd en zorgvuldig commentaar werd niet altijd op prijs gesteld.

Afgelopen jaren heb ik tweemaal langdurig met haar gesproken over de ontwikkelingen in de klinische virologie in het verleden. Wat mij verraste bij deze gesprekken was dat zij vertelde dat zij en haar echtgenoot zo genoten van de huisconcerten die zij

organiseerden rond de prachtige vleugel in de woonc.q. muziekkamer. De actieve belangstelling voor klassieke muziek was iets dat ik niet verwachtte naast het grote tijdsbeslag dat de beroepsgebonden bezigheden van haar eiste.

Gerard van Doornum

Bron: Dumas A.M. en G.J.P. Schaap. 1984. Snelle virusdiagnostiek. NTvG 1984, 128, nr 39:1851-5.

PROMOTIES

18 juni 2021 - H. Akhloufi

Antibiotic Stewardship: Clinical decision support systems to improve antibiotic use in hospitals

Promotor: prof. dr. A. Verbon
Copromotor: dr. I.H. van der Sijs
Erasmus MC Rotterdam, afd. Medische Microbiologie & Infectieziekten en Sectie Infectieziekten/Inwendige Geneeskunde

21 juni 2021 - N.M.A. Kameli

Gut microbiota-derived vesicles: novel players in health and disease

Promotor: prof. dr. P.H.M. Savelkoul
Copromotor: dr. F.R.M. Stassen
Universiteit Maastricht, Faculty Health, Medicine and Life Sciences, vakgroep Medische Microbiologie

29 juni 2021 - Ö.M. Koc

Viral hepatitis B: the past, the present and future directions

Promotoren: prof. dr. P.H.M. Savelkoul en prof. dr. G. Robaey
Copromotoren: dr. A. Oude Lashof, dr. G. Koek en prof. dr. P. Van Damme
Universiteit Maastricht, Faculty Health, Medicine and Life Sciences, vakgroep Medische Microbiologie.
Universiteit Hasselt, België

5 juli 2021 - J.A. Aguilar Briseño

Sensing dengue and chikungunya virus (co-) infections

Promotor: prof. dr. J.M. Smit
Copromotor: dr. I.A. Rodenhuis-Zybert
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie en Infectiepreventie, vakgroep Experimentele Virologie

6 juli 2021 - E.M. Bouma

Virus: host interactions during chikungunya virus infection

Promotor: prof. dr. J.M. Smit
Copromotor: dr. I.A. Rodenhuis-Zybert
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie en Infectiepreventie, vakgroep Experimentele Virologie

6 juli 2021 - B.M.J.W. van der Veer

Oropharyngeal Neisseria gonorrhoeae: the key for surveillance

Promotor: prof. dr. C.J.P.A. Hoebe
Copromotoren: dr. L. van Alphen en dr. P. Wolffs
Universiteit Maastricht, Faculty Health, Medicine and Life Sciences, vakgroep Medische Microbiologie en Sociale Geneeskunde

25 augustus 2021 - M.S. Berends

A new instrument for microbial epidemiology

Promotor: prof. dr. A.W. Friedrich
Copromotoren: dr. C. Glasner en dr. G.I. Andriess
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie en Infectiepreventie

7 september 2021 - V.H. Hackert

Mapping Underestimation in Q Fever: Insights from a Major Cross-Border Outbreak in the Meuse-Rhine Euroregion

Promotor: prof. dr. C.J.P.A. Hoebe
Copromotor: dr. N.H.T.M. Dukers-Muijers
Universiteit Maastricht, Faculty Health, Medicine and Life Sciences, vakgroep Medische Microbiologie en Sociale Geneeskunde

21 september 2021 - P. Huizinga

Epidemiology of antimicrobial-resistant bacteria in food and humans

Promotor: prof. dr. J.A.J.W. Kluytmans
UMC Utrecht, afd. Epidemiologie. Julius Centrum for Health Sciences and Primary Care

Uitgegeven door
de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie
september 2021

www.nvmm.nl